

lek. Radosław Lisiecki

**Znaczenie kliniczne badania płynu z jamy otrzewnej na  
obecność wolnych komórek raka u pacjentów  
zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego z powodu  
raka żołądka**

**Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych**

**Promotor: dr hab. Dawid Murawa**

Odział Chirurgii Onkologicznej i Ogólnej I  
Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu  
Katedra i Zakład Patologii i Profilaktyki Nowotworów  
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu



Wydział Lekarski I

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2017

*Dziękuję Panu dr hab. Dawidowi Murawie za poświęcony czas i cenne uwagi w trakcie realizacji niniejszej pracy.*

*Dziękuję pracownikom Oddziału Chirurgii Onkologicznej i Ogólnej I Wielkopolskiego Centrum Onkologii w Poznaniu za okazaną pomoc w trakcie realizacji badań.*

*Dziękuję Mojej Rodzinie i Przyjaciołom za okazane wsparcie.*

## SPIS TREŚCI

<b>1. WSTĘP</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1 Epidemiologia raka żołądka</b> .....	<b>5</b>
<b>1.2. Etiopatogeneza raka żołądka</b> .....	<b>7</b>
<b>1.3. Patomorfologia nowotworów żołądka</b> .....	<b>9</b>
1.3.1. Klasyfikacje raka żołądka .....	10
1.3.2. Czynniki prognostyczne i predykcyjne w raku żołądka .....	15
1.3.3. Rak połączenia przełykowo – żołądkowego .....	15
1.3.4. Rak wczesny i zaawansowany .....	16
<b>1.4. Objawy raka żołądka</b> .....	<b>18</b>
<b>1.5. Diagnostyka i ocena stopnia zaawansowania raka żołądka</b> .....	<b>19</b>
1.5.1 Analiza popłuczyn otrzewnowych w diagnostyce przedoperacyjnej raka żołądka .....	20
<b>1.6. Patomechanizm rozsiewu otrzewnowego i metody diagnostyczne wolnych komórek raka w otrzewnej</b> .....	<b>22</b>
<b>1.7. Historia leczenia raka żołądka</b> .....	<b>25</b>
<b>1.8. Leczenie raka żołądka</b> .....	<b>26</b>
1.8.1 Leczenie raka wczesnego .....	26
1.8.2. Leczenie raka zaawansowanego .....	27
1.8.3. Leczenie raka żołądka w stadium rozsiewu .....	34
<b>1.9 Przeżycia w raku żołądka</b> .....	<b>35</b>
<b>2. CELE PRACY</b> .....	<b>36</b>
<b>3. MATERIAŁ I METODY</b> .....	<b>37</b>
3.1 Charakterystyka grupy badanej .....	37
3.2 Kryteria włączenia do badania .....	39
3.3 Kryteria wyłączenia z badania .....	39
3.4 Metodologia procedury pobrania i oceny popłuczyn otrzewnowych .....	40
3.5 Metody immunohistochemiczne .....	41
3.6 Interpretacja wyników .....	41
3.7 Analiza statystyczna .....	43
<b>4. WYNIKI</b> .....	<b>45</b>
4.1 Analiza danych klinicznych i histopatologicznych grupy badanej .....	45
4.2 Wyniki badania popłuczyn otrzewnowych .....	47

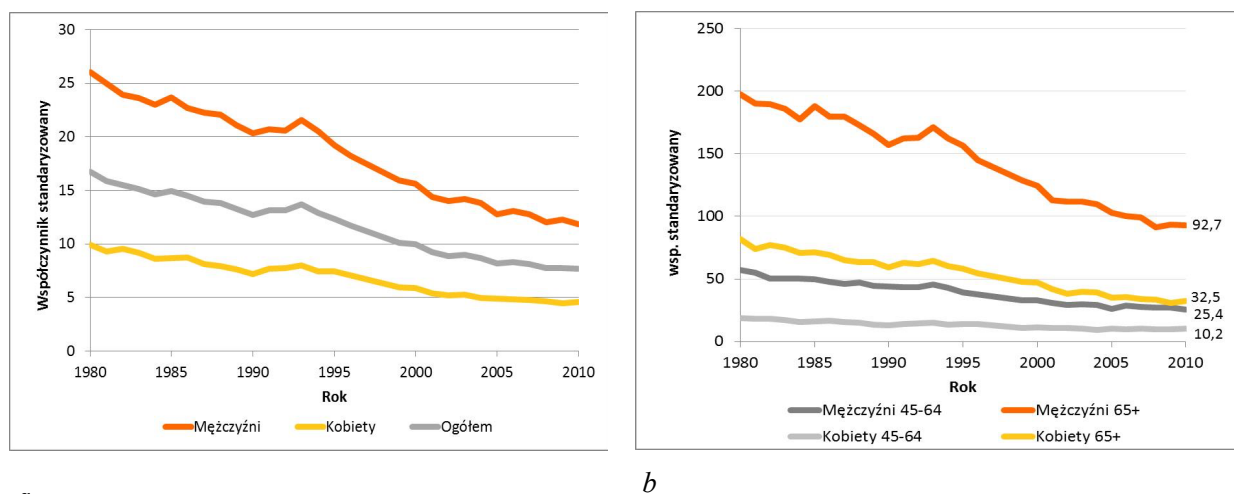
<b>4.3 Porównanie grup pacjentów z pozytywnym fcc (+) i negatywnym fcc (-) wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych .....</b>	<b>50</b>
4.3.1 Parametry kliniczne i wyniki badań biochemicznych przedoperacyjnych .....	50
4.3.2 Leczenie okołoperacyjne i uzupełniające .....	52
4.3.3 Wyniki badań histopatologicznych preparatów pooperacyjnych.....	52
<b>4.4 Analiza przeżycia .....</b>	<b>59</b>
<b>4.5 Identyfikacja czynników mogących mieć wpływ na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych .....</b>	<b>66</b>
<b>5. OMÓWIENIE WYNIKÓW .....</b>	<b>70</b>
5.1. Ocena stopnia zaawansowania choroby nowotworowej .....	70
5.2. Metody diagnostyczne komórek raka w popłuczynach otrzewnowych .....	71
5.3. Przeżycie chorych.....	74
5.4. Czynniki wpływające na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych.....	78
5.5. Proponowane strategie terapeutyczne u pacjentów z pozytywnym wynikiem badania płynu z otrzewnej na obecność wolnych komórek raka .....	81
<b>6. WNIOSKI.....</b>	<b>86</b>
<b>7. STRESZCZENIE.....</b>	<b>87</b>
<b>8. ABSTRACT .....</b>	<b>90</b>
<b>9. PIŚMIENNICTWO.....</b>	<b>92</b>
<b>10. WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW .....</b>	<b>104</b>
<b>11. SPIS TABEL I RYCIN.....</b>	<b>108</b>

# 1. WSTĘP

## 1.1 EPIDEMIOLOGIA RAKA ŻOŁĄDKA

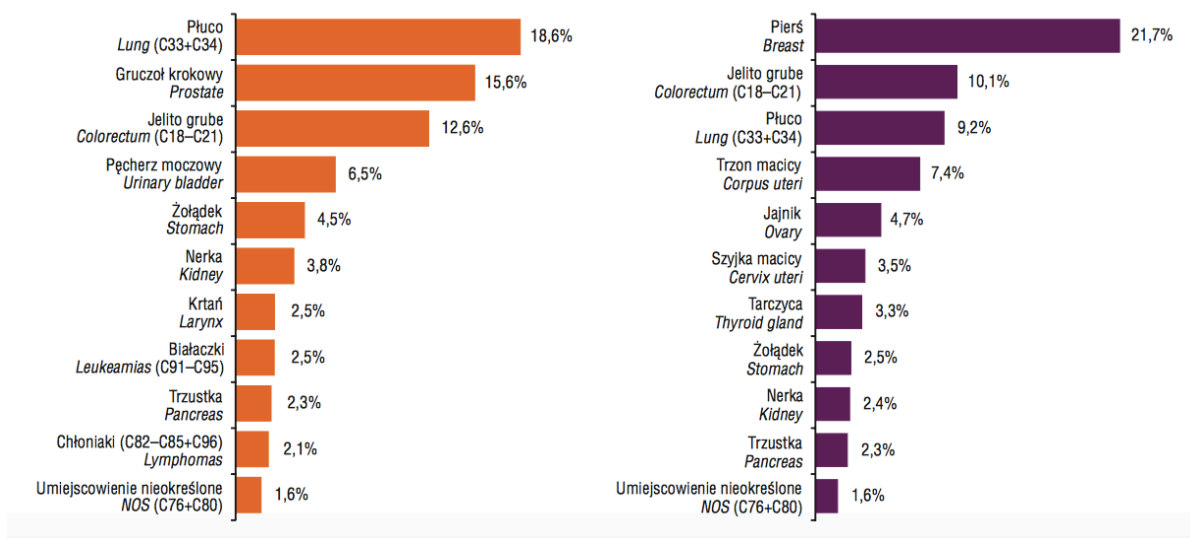
Nowotwory złośliwe żołądka pomimo obserwowanego od pół wieku spadku zachorowalności i umieralności nadal pozostają piątym najczęstszym nowotworem i trzecią przyczyną zgonu z powodu chorób nowotworowych na świecie (1).

Największą zachorowalność obserwuje się w krajach azjatyckich (Japonia, Korea, Chiny), Europie Wschodniej oraz w Ameryce Środkowej i Południowej. Z kolei niską częstość występowania obserwuje się w krajach Europy Zachodniej i w Ameryce Północnej. Polska jest rejonem o średniej zachorowalności i podobnie jak w krajach Europy Zachodniej w ciągu ostatnich trzech dekad udział raka żołądka w zachorowaniach na nowotwory zmniejszył się dwukrotnie (rycina 1)(2,3).



Rycina 1. Trend zachorowalności na nowotwory żołądka w Polsce w latach 1980-2010 (a) – wszyscy chorzy, (b) – wybrane grupy wiekowe (3).

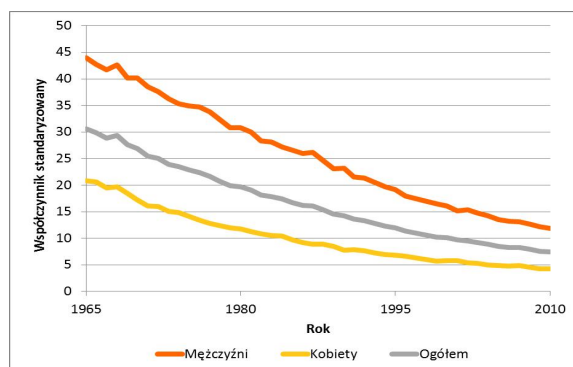
Rocznie w naszym kraju rejestruje się około 5300 nowych przypadków. Według Krajowego Rejestru Nowotworów z 2014 roku rak żołądka zajmował piąte miejsce pod względem zachorowalności u mężczyzn i ósme u kobiet (rycina 2).



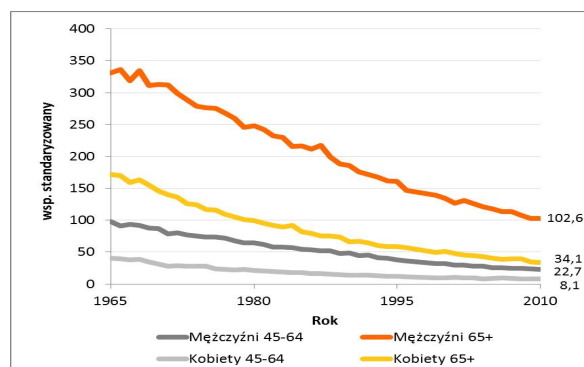
Rycina 2. Struktura zachorowań na nowotwory złośliwe w Polsce w 2014 r wśród mężczyzn i kobiet (2).

Należy zwrócić uwagę, iż na malejący trend zapadalności na raka żołądka ma wpływ zmniejszenie częstości występowania raka w dystalnej części narządu na obszarach gdzie zapadalność na ten typ nowotworu jest największa. Natomiast nowotwory zlokalizowane w części proksymalnej żołądka i w okolicy połączenia przełykowo – żołądkowego wykazują tendencję wzrostową. W krajach wysoko rozwiniętych stanowią one 50% wszystkich raków żołądka.

W polskiej populacji obserwuje się od pięciu dekad spadek umieralności z powodu raka żołądka. Liczba zgonów w tym czasie zmniejszyła się wśród mężczyzn prawie czterokrotnie, wśród kobiet pięciokrotnie (rycina 3). Aktualnie rocznie z powodu raka żołądka umiera około 5000 osób.



a



b

Rycina 3. Trendy umieralności na nowotwory żołądka w Polsce w latach 1965-2010. (a) - wszyscy chorzy, (b) - wybrane grupy wiekowe (3).

## 1.2. Etiopatogeneza raka żołądka

Proces rozwoju raka żołądka ma charakter wieloetapowy. W latach osiemdziesiątych dwudziestego wieku Correa opracował model kancerogenezy, w którym podstawowymi zmianami histologicznymi następującymi po sobie są: przewlekłe zapalenie błony śluzowej żołądka, przewlekłe zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka, metaplasja jelitowa, dysplazja a w końcowym etapie rak. Inicjacja procesu zapalnego w błonie śluzowej żołądka jest najczęściej efektem zakażenia bakterią *Helicobacter pylori*, rzadziej natomiast jest skutkiem podrażnień chemicznych i procesów autoimmunologicznych w niedokrwistości złośliwej (4,5).

*Helicobacter pylori* jest Gram-ujemną bakterią, odkrytą przez Marshalla i Warrena w 1983r. Bakteria ma zdolność kolonizacji błony śluzowej żołądka. Do zakażenia najczęściej dochodzi w dzieciństwie drogą pokarmową i przez wiele lat ma charakter bezobjawowy (6). Szacuje się, że kolonizacja dotyczy połowy światowej populacji, natomiast w krajach rozwijających się wśród najbardziej niebezpiecznych poziom infekcji sięga 70-80% (7). W Polsce wg danych z 2004 roku zakażenie dotyczyło 84% osób dorosłych i 32% dzieci do 18 roku życia (8).

Cechą charakterystyczną bakterii jest zdolność produkcji toksyn i enzymów – ureazy, oksydazy, alkalicznej fosfatazy, amoniaku i innych, które umożliwiają przetrwanie w kwaśnym środowisku, a jednocześnie uszkodzają błonę śluzową inicjując proces zapalny ze strony gospodarza (9). W 1994 roku *Helicobacter pylori* została uznana przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer) za czynnik rakotwórczy, predysponujący do rozwoju raka żołądka u ludzi.

Należy zwrócić uwagę na fakt, iż u większości ludzi z infekcją *Helicobacter pylori* nie rozwija się rak. Uważa się, że czynnikiem częściej inicjującym procesy zapalne w błonie śluzowej żołądka są szczepy bakterii zawierające geny *cagA* i *vacA*. Są to szczepy bardziej wirulentne, produkujące większą ilość toksycznych dla żołądka substancji, co wiąże się z wyższym odsetkiem ciężkich zanikowych zapaleń i rozwojem raka. Nie bez znaczenia dla inicjacji procesów zapalnych w żołądku są też wysokie poziomy cytokin prozapalnych głównie interleukiny - 1B w organizmie gospodarza, co skutkuje hipochlorhydrią i w efekcie gorszym efektem osłonowym przed toksynami bakteryjnymi.

Poza czynnikiem bakteryjnym do powtarzających się stanów zapalnych błony śluzowej żołądka dochodzi na skutek przewlekłego działania kancerogenów zawartych w diecie. Wyniki licznych badań wskazują, że spożywanie pokarmów konserwowanych dużą ilością soli, wędzonych, zawierających policykliczne węglowodory aromatyczne, bogatych w związki azotowe, które ulegają redukcji do azotynów przyczynia się do uszkodzenia błony śluzowej żołądka. Do innych czynników ryzyka występowania raka żołądka należy zaliczyć: otyłość i palenie tytoniu (dotyczy głównie raka okolicy połączenia przełykowo – żołądkowego) oraz mniej istotne czynniki takie jak: radioterapia w wywiadzie, stan po częściowej resekcji żołądka, osoby z grupą krwi A, niedokrwistość złośliwa, zakażenie wirusem Epstein- Barr, spożywanie dużych ilości alkoholu, brak aktywności fizycznej (10).

Możliwość rozwoju zapalenia błony śluzowej wzrasta wraz z wiekiem, szacuje się, że dotyczy około 40% chorych po 60 roku życia (11). Przewlekły wpływ *Helicobacter pylori* i innych kancerogenów zawartych w diecie powoduje, że w zanikowej błonie śluzowej żołądka w kolejnym etapie kancerogenezy pojawia się nabłonek jelitowy – najczęściej jelita cienkiego (metaplazja). Metaplazja jelitowa jest w większości przypadków stanem nieodwracalnym, a z biegiem czasu na podłożu zmian metaplastycznych pojawiają się ogniska dysplazji, czyli zaburzenia architektони, nieprawidłowe różnicowanie i obecność komórek atypowych. Wyróżnia się dysplazję małego i dużego stopnia. Dysplazja dużego stopnia jest stanem bezpośrednio poprzedzającym stadium raka inwazyjnego.

Zarówno toksyny bakteryjne, jak i mediatory stanu zapalnego powodują w komórkach błony śluzowej na poszczególnych etapach kancerogenezy szereg zaburzeń molekularnych prowadzących do rozwoju nowotworu.



Przedstawiona powyżej sekwencja zmian jest charakterystyczna dla postaci epidemicznej raka żołądka (typ jelitowy według Laurena) - występuje na terenach zwiększonego zachorowania na raka żołądka, częściej u ludzi starszych, guz zlokalizowany jest w dystalnej części narządu i w ostatnich dekadach obserwuje się malejący trend zapadalności na tę postać nowotworu żołądka, co ma związek z eradykacją *Helicobacter pylori*, poprawą nawyków żywieniowych, zmianą sposobu przechowywania żywności i wzrostem higieny.

Mniejszy udział czynnika środowiskowego, a większą zależność od zmian genetycznych obserwuje się w postaci endemicznej raka żołądka (typ rozlany według Laurena) - dotyczy częściej młodszych pacjentów, głównie kobiet, występuje na terenach gdzie rak żołądka rozpoznawany jest rzadko oraz nie obserwuje się spadku częstości występowania tej formy raka.

Szacuje się, że ok 10% przypadków raka żołądka ma potwierdzone rodzinne występowanie tego nowotworu. Jak dotąd jedynym opisanym zespołem predysponującym do dziedzicznego raka żołądka jest zespół występujący u nosicieli mutacji genu *CDH1* kodującego E-kadherynę. Mutacja ta jest związana z 80% ryzykiem zachorowania na raka żołądka typu rozlanego według Laurena u pacjentów w bardzo wczesnym wieku (12,13). Jednak należy zauważyć, iż w większości przypadków dziedzicznego raka żołądka wciąż jeszcze nie zdefiniowano genów odpowiadających za powstanie tego nowotworu. W literaturze opisano kilka zespołów w przebiegu, których rak żołądka występuje ze zwiększoną częstością: dziedziczny rak piersi lub jajnika (mutacje genów *BRCA1* lub *BRCA2*); zespół rodzinnej polipowatości gruczołakowatej jelita grubego (mutacje genu *APC*); zespół HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer) (mutacje genów *PMS1*, *PMS2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*); zespół Cowdena (mutacje genu *PTEN*); zespół Blooma (mutacje genu *BLM*); zespół Peutza - Jeghersa (mutacje genu *STK11*); zespół Li Fraumeni (mutacje genu *P53*) (14).

### **1.3. Patomorfologia nowotworów żołądka**

Spośród wszystkich nowotworów złośliwych żołądka najczęściej występuje rak gruczołowy (90 - 95%). W tabeli 1 przedstawiono aktualną klasyfikację typów histologicznych raka żołądka według Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization - WHO). Poza nowotworami nabłonkowymi w żołądku stwierdza się

chłoniaki, nowotwory mezenchymalne, nowotwory neuroendokrynne oraz przerzuty nowotworowe z innych narządów. Chłoniaki nieziarnicze są drugą pod względem częstości występowania grupą nowotworów złośliwych (3-5%). Wywodzą się z limfocytów B (85%) i limfocytów T (15%). W obrębie żołądka stwierdza się około 70% wszystkich chłoniaków przewodu pokarmowego, większość z nich (80%) stanowią chłoniaki o niskim stopniu złośliwości. Wśród chłoniaków o niskim stopniu złośliwości dominuje chłoniak strefy brzeżnej typu MALT, natomiast spośród chłoniaków o dużym stopniu złośliwości najczęściej występują chłoniaki rozlane z dużych komórek B. Razem te dwie postaci chłoniaka stanowią 90% wszystkich chłoniaków w żołądku. W etiopatogenezie chłoniaka typu MALT podkreśla się istotny udział infekcji bakteryjnej *Helicobacter pylori*.

Spośród nowotworów mezenchymalnych żołądka najczęściej występuje nowotwór podścieliskowy (Gastrointestinal Stromal Tumor – GIST). Rzadziej inne mięsaki, nowotwory neuroendokrynne (Neuroendocrine Tumors – NET) oraz przerzuty nowotworów z innych narządów.

### **1.3.1. Klasyfikacje raka żołądka**

Każdy raport patologiczny badania materiału pooperacyjnego raka żołądka powinien uwzględnić: typ histologiczny i stopień zróżnicowania (G) raka według klasyfikacji WHO z 2010 roku, typ histologiczny według Laurena, stopień kliniczno – patologicznego zaawansowania raka według systemu TNM oraz stopień resekcyjności (R).

#### *Klasyfikacja histopatologiczna raka żołądka*

Tabela 1 przedstawia podział nabłonkowych nowotworów złośliwych żołądka według WHO z 2010 roku (15).

*Tabela 1. Klasyfikacja histologiczna raka żołądka według WHO z 2010 roku (15)*

<p>Rak gruczołowy (adenocarcinoma)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ rak gruczołowy brodawkowy (papillary adenocarcinoma)</li> <li>▪ rak gruczołowy cewkowy (tubular adenocarcinoma)</li> <li>▪ rak gruczołowy śluzowy (mucinous adenocarcinoma)</li> <li>▪ rak o małej spistości w tym rak śluzowokomórkowy i inne warianty (poorly cohesive carcinoma including signet ring cell carcinoma and other variants)</li> <li>▪ rak gruczołowy mieszany (mixed adenocarcinoma)</li> </ul>
<p>Rak gruczołowo – płaskonabłonkowy (adenosquamous carcinoma)</p>
<p>Rak z naciekiem limfocytarnym w podścielisku (rak rdzeniasty) (carcinoma with lymphoid stroma (medullary carcinoma))</p>
<p>Rak gruczołowy podobny do wątrobowokomórkowego (hepatoid adenocarcinoma)</p>
<p>Rak płaskonabłonkowy (squamous cell carcinoma)</p>
<p>Rak niezróżnicowany (undifferentiated carcinoma)</p>

*Klasyfikacja stopnia zróżnicowania raka żołądka (G)*

W badaniu patomorfologicznym gruczolakoraka żołądka poza określeniem typu histologicznego należy ocenić stopień dojrzałości histologicznej (zróżnicowania).

W tabeli 2 przedstawiono kryteria oceny stopnia dojrzałości histologicznej raka żołądka. Przy czym oceny tej dokonuje się tylko dla gruczolakoraków cewkowych i brodawkowatych, w innych typach histologicznych tej klasyfikacji nie stosuje się.

*Tabela 2. Ocena stopnia dojrzałości (zróżnicowania) raka żołądka (G)*

<p>Raki gruczołowe o wysokim stopniu zróżnicowania zawierające powyżej 95% struktur gruczołowych – G1</p>
<p>Raki gruczołowe o pośrednim stopniu zróżnicowania zawierające 50 - 95% struktur gruczołowych – G2</p>
<p>Raki gruczołowe o niskim stopniu zróżnicowania zawierające 5 – 50% struktur gruczołowych – G3</p>

### Klasyfikacja według Laurena

W 1965 roku powstała zaproponowana przez Laurena klasyfikacja uwzględniająca czynniki histologiczno - epidemiologiczne raka żołądka.

Według Laurena wyróżnia się następujące typy raka żołądka:

- Typ I – jelitowy – dobrze ograniczony guz o rozprężającym typie wzrostu, o strukturze podobnej do nabłonka jelitowego, w swoim utkaniu zawiera elementy raka gruczołowego o różnym stopniu dojrzałości, towarzyszy mu zwykle zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka z metaplazją jelitową, związany z czynnikami środowiskowymi, występuje na obszarach o wyższej zachorowalności na tę chorobę. Zlokalizowany głównie w dystalnej części narządu. Stanowi 54% raków żołądka.
- Typ II – rozlany – zawierający powyżej 50% utkania raka o małej kohezji, rozrasta się śródściennie z rozproszonymi komórkami nowotworowymi, nie tworzy wyraźnych granic guza. Występuje niezależnie od zmian morfologicznych w błonie śluzowej żołądka. W etiopatogenezie podkreśla się udział czynnika genetycznego. Stanowi 32% raków żołądka.
- Typ III – mieszany – zawiera cechy postaci jelitowej i rozlanej, rozpoznawany jest w 14% raków żołądka.

### Klasyfikacja TNM raka żołądka

Dla określenia stopnia zaawansowania raka żołądka obecnie najczęściej stosuje się klasyfikację TNM, która opiera się na ocenie następujących elementów: naciekanie guza nowotworowego (cecha T), stan zajęcia węzłów chłonnych (cecha N), obecność przerzutów odległych (cecha M).

W 2010 roku Międzynarodowa Unia do Spraw Nowotworowych (International Union Against Cancer – UICC) przedstawiła VII edycję klasyfikacji TNM (tabela 3) (16).

Tabela 3. Klasyfikacja zaawansowania TNM dla raka żołądka (VII edycja) (16)

Guz pierwotny – cecha T	
Tx	Nie można określić guza pierwotnego
T0	Nie stwierdza się guza pierwotnego
Tis	Rak śródnabłonkowy nienaciekający blaszki właściwej (in situ)
T1	Guz nacieka blaszkę właściwą/blaszkę mięśniową błony śluzowej lub warstwę podśluzową
T1a	Guz nacieka blaszkę właściwą/blaszkę mięśniową błony śluzowej
T1b	Guz nacieka warstwę podśluzową
T2	Guz nacieka warstwę mięśniową
T3	Guz nacieka tkankę łączną znajdującą się pod warstwą surowiczą, ale nie nacieka otrzewnej trzewnej i sąsiadujących struktur
T4	Guz nacieka otrzewną trzewną lub sąsiadujące struktury
T4a	Guz nacieka otrzewną trzewną
T4b	Guz nacieka sąsiadujące struktury
Regionalne węzły chłonne – cecha N	
Nx	Nie można ocenić regionalnych węzłów chłonnych
N0	Nie stwierdza się przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych
N1	Obecne są przerzuty w 1-2 regionalnych węzłach chłonnych
N2	Obecne są przerzuty w 3 – 6 regionalnych węzłach chłonnych
N3	Obecne są przerzuty w 7 i więcej regionalnych węzłach chłonnych
N3a	Obecne są przerzuty w 7-15 regionalnych węzłach chłonnych
N3b	Obecne są przerzuty w 16 i więcej regionalnych węzłach chłonnych
Przerzuty odległe – cecha M	
M0	Nie stwierdza się przerzutów odległych
M1	Stwierdza się przerzuty odległe, w tym obecność wolnych komórek raka żołądka w popłuczynach otrzewnowych bez widocznych makroskopowo zmian przerzutowych

W oparciu o klasyfikację TNM określa się stopnie klinicznego zaawansowania nowotworu (tabela 4).

*Tabela 4. Stopnie zaawansowania klinicznego raka żołądka (16)*

Stopień zaawansowania	Cecha T	Cecha N	Cecha M
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
IIIB	T4b	N0	M0
	T4b	N1	M0
	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
IIIC	T4b	N2	M0
	T4b	N3	M0
	T4a	N3	M0
IV	Każde T	Każde N	M1

*Klasyfikacja resekcyjności raka żołądka*

Kolejnym elementem oceny patologicznej materiału pooperacyjnego raka żołądka jest ocena resekcyjności guza według klasyfikacji R.

- R0 – całkowita makroskopowa i mikroskopowa resekcja z brakiem nacieku nowotworowego w marginesie proksymalnym, dystalnym i radialnym.
- R1 – mikroskopowo stwierdzony naciek raka w marginesie proksymalnym i/lub dystalnym i radialnym.

- R2 – makroskopowo i mikroskopowo stwierdzany naciek raka w marginesie proksymalnym i/lub dystalnym i radialnym.

### **1.3.2. Czynniki prognostyczne i predykcyjne w raku żołądka**

Histopatologiczna ocena materiału pooperacyjnego w oparciu o podane wyżej klasyfikacje jest niezbędna dla właściwej oceny klinicznie przydatnych czynników prognostycznych i predykcyjnych, którymi w raku żołądka są:

- głębokość naciekania ściany żołądka według klasyfikacji pTNM
- naciekanie błony surowiczej – pT4
- stan marginesów według klasyfikacji R
- typ histologiczny według klasyfikacji WHO
- typ histologiczny według Laurena
- liczba i stan regionalnych węzłów chłonnych

### **1.3.3. Rak połączenia przełykowo – żołądkowego**

Poza wyżej wymienionymi czynnikami patologicznymi, niekorzystnie na rokowanie wpływa lokalizacja guza nowotworowego w okolicy połączenia przełykowo – żołądkowego. Są to wszystkie nowotwory obejmujące wpust niezależnie od tego czy główna masa nowotworu znajduje się w żołądku lub przełyku.

Według Siewerta wyróżnia się trzy typy raka połączenia przełykowo – żołądkowego (17).

- Typ I – tzw. rak Barretta, rak gruczołowy, którego najczęstszym punktem wyjścia jest metaplaszja jelitowa zmienionej błony śluzowej przełyku Barretta, guzy mogą naciekać połączenie przełykowo-żołądkowe.
- Typ II – właściwy guz wpustu, którego podłożem jest nabłonek wpustu lub krótki segment metaplaszji jelitowej połączenia przełykowo-żołądkowego.

- Typ III – guz podwypustowy naciekający połączenie przełykowo - żołądkowe od dołu.

Należy wspomnieć, iż zgodnie z klasyfikacją TNM (VII edycja) gruczolakoraki, które powstały w odległości mniejszej niż 5 cm od połączenia przełykowo – żołądkowego i szerzą się na przełyk są klasyfikowane, jako raki przełyku, natomiast, gdy lokalizacja raka jest w żołądku i nie szerzy się na przełyk klasyfikuje się, jako raki żołądka.

#### **1.3.4. Rak wczesny i zaawansowany**

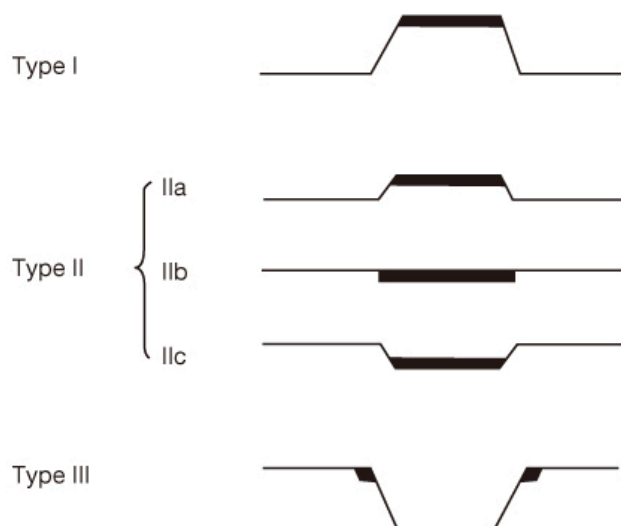
Z klinicznego punktu widzenia istotny jest także podział raka żołądka na dwie kategorie w zależności od stopnia inwazji procesu nowotworowego w poszczególne warstwy ściany żołądka. Przedstawiony poniżej podział raka żołądka na postać wczesną i zaawansowaną ma swoje odzwierciedlenie nie tylko w manifestacji klinicznej choroby nowotworowej, a także wpływa na odmienne możliwości terapeutyczne.

Rak wczesny – proces inwazji ograniczony jest do błony śluzowej i podśluzowej, niezależnie od zajęcia węzłów chłonnych. Rokowanie na tym etapie zaawansowania choroby jest bardzo dobre – przeżycia pięcioletnie wynoszą 90% (18 – 20). W większości przypadków jest bezobjawowy i rozpoznawany głównie przypadkowo w badaniu endoskopowym żołądka. Dlatego też częstość rozpoznania raka wczesnego w krajach gdzie nie wykonuje się badań przesiewowych wynosi od 5-20% (21,22). W krajach azjatyckich (Japonia, Korea) rozpoznanie raka żołądka na tym etapie zaawansowania dotyczy co najmniej połowy pacjentów. Jest to efekt wprowadzenia badań przesiewowych w kierunku raka żołądka (23).

W endoskopowej japońskiej klasyfikacji wczesnego raka żołądka wyróżnia się następujące typy wzrostu:

- Typ I – polipowaty uniesiony
- Typ IIa – powierzchniowy uniesiony
- Typ IIb – płaski
- Typ IIc – powierzchniowy zagłębiony
- Typ III – zagłębiony



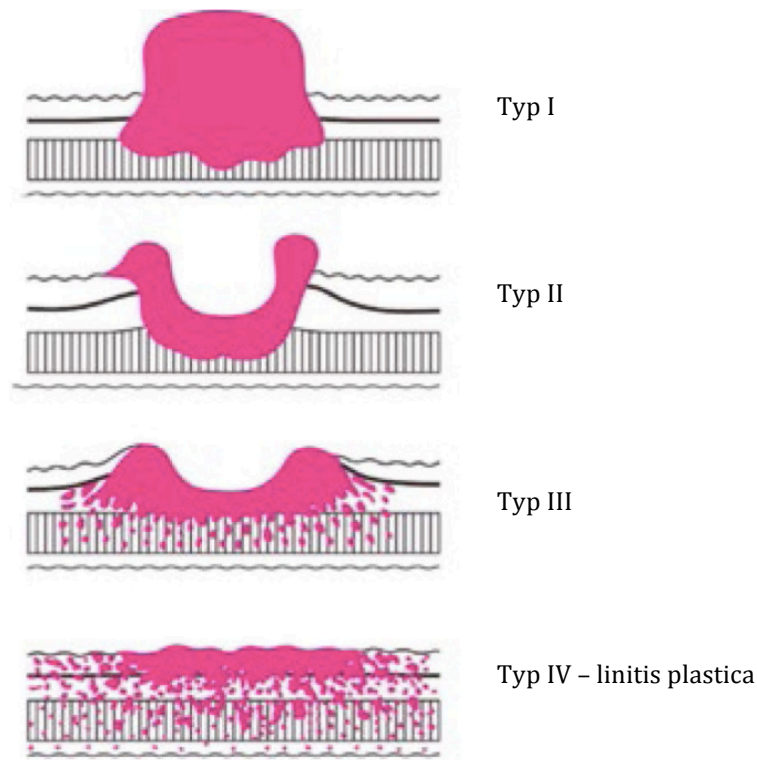


*Rycina 4. Endoskopowa klasyfikacja wczesnego raka żołądka (24).*

Rak zaawansowany – proces inwazji obejmuje, co najmniej warstwę mięśniową ściany żołądka oraz tkanki otaczające (19). W Polsce podobnie jak w krajach Europy Zachodniej rak żołądka jest rozpoznawany na tym etapie zaawansowania w większości przypadków, co niekorzystnie wpływa na wyniki leczenia.

Do makroskopowej oceny zaawansowanego raka żołądka służy klasyfikacja Boarmanna.

- Typ I – guz polipowaty na szerokiej podstawie
- Typ II – guz owrzodziały z uniesionymi brzegami, ostro odgraniczony
- Typ III – guz owrzodziały bez wyraźnie odgraniczonych brzegów, naciekający otaczającą ścianę
- Typ IV – guz rozległe naciekający, śródścienny bez zaznaczonego brzegu (linitis plastica)



Rycina 5. Klasyfikacja Boarmanna zaawansowanego raka żołądka (24).

#### 1.4. Objawy raka żołądka

Wczesny etap choroby nowotworowej żołądka w większości przypadków ma charakter bezobjawowy. Pojawiające się dolegliwości w postaci niestrawności, uczucia sytości po posiłku, poboлеваń w nadbrzuszu są mało specyficzne dla raka żołądka i mogą przypominać objawy spotykane w innych schorzeniach (choroba wrzodowa, niestrawność, stany zapalne). Co więcej dolegliwości te w większości przypadków ustępują po lekach hamujących wydzielanie żołądkowe. Brak charakterystycznych objawów na wczesnym etapie choroby skutkuje opóźnieniem w rozpoznaniu, co bezpośrednio przekłada się na złe wyniki leczenia raka żołądka. Progresja choroby nowotworowej powoduje pojawienie się objawów związanych z powiększającą się masą guza lub rozsiewem choroby i najczęściej są to: utrata łaknienia, stałe bóle, smoliste stolce, niedokrwistość, nudności, wymioty, dysfagia, utrata masy ciała, wyniszczenie nowotworowe. W badaniu przedmiotowym w dalszych etapach choroby można stwierdzić wyczuwalny guz w nadbrzuszu, powiększenie węzłów chłonnych, szczególnie węzłów znajdujących się nad obojczykiem po lewej stronie (tzw. węzeł

Virchowa), wodobrzusze, wysięk w jamie opłucnej, guz jajnika (tzw. guz Krukenberga będący przerzutem raka żołądka do jajnika).

Pojawienie się tych objawów świadczy o dużym zaawansowaniu choroby i niekorzystnym rokowaniu dla chorego (11,14).

Dlatego też w celu zwiększenia rozpoznań raka żołądka w niskim stopniu zaawansowania - zgodnie z wytycznymi Kolegium Lekarzy Rodzinnych w Polsce oraz European Society for Primary Care Gastroenterology (ESPCG) u wszystkich osób po 45 roku życia, które zgłaszają objawy dyspeptyczne należy wykonać badanie endoskopowe w celu wykluczenia raka żołądka. Badanie to należy wykonać także niezależnie od wieku, gdy objawom dyspeptycznym towarzyszą: utrata łaknienia, zaburzenia połykania, niezamierzona utrata masy ciała, zakażenie *Helicobacter pylori* lub występuje obciążenie rodzinne nowotworem żołądka oraz gdy nie obserwuje się poprawy po leczeniu lekami zmniejszającymi kwaśność soku żołądkowego (inhibitory pompy protonowej, inhibitory receptora histaminowego H<sub>2</sub>), przez co najmniej 4 tygodnie i/lub w przypadku nawrotu dolegliwości po odstawieniu tych leków (25,26).

Odsetek rozpoznania wczesnego raka żołądka w Polsce wynosi 6 – 10% (22), w krajach Europy Zachodniej nie przekracza 20%. W Japonii i Korei gdzie wykonuje się badania przesiewowe w kierunku raka żołądka odsetek ten wynosi około 50% (23).

### **1.5. Diagnostyka i ocena stopnia zaawansowania raka żołądka**

Podstawowym badaniem w diagnostyce raka żołądka jest endoskopia górnego odcinka przewodu pokarmowego. W trakcie badania istnieje możliwość pobrania wycinków do badania histopatologicznego w celu potwierdzenia rozpoznania. Niezbędnym dla dalszego postępowania chirurgicznego jest także opis makroskopowy stwierdzanych zmian zgodnie z przedstawionymi wyżej klasyfikacjami endoskopowymi oraz ich dokładna lokalizacja w żołądku.

Wydaje się, że największym problemem diagnostycznym jest wciąż identyfikacja wczesnej postaci raka. Z tego powodu w ostatnich latach obserwuje się wprowadzenie do diagnostyki endoskopowej wideoendoskopii o wysokiej rozdzielczości, obrazowania w wąskim paśmie światła widzialnego oraz innych technik poprawiających wizualizację wczesnych patologii śluzówkowych w żołądku.

Rozwój endoskopii spowodował, że badanie radiologiczne wykonywane techniką podwójnego kontrastu w diagnostyce raka żołądka jest aktualnie rzadziej wykonywane. Może być przydatne przy ograniczonych możliwościach endoskopii - w przypadku zwężeń lub podejrzenia usztywnienia ścian przy braku zmian śluzówkowych (linitis plastica).

Po histopatologicznym potwierdzeniu nowotworu złośliwego, w dalszym etapie diagnostyki, należy wykonać badania mające na celu ocenę stopnia zaawansowania choroby nowotworowej w oparciu o klasyfikację TNM. Standardowo klasyczny algorytm diagnostyczny uwzględnia badania obrazowe oceniające stopień inwazji guza nowotworowego (cecha - T), stan układu chłonnego (cecha - N) i rozsiew choroby (cecha - M). W tym celu najczęściej wykonywana jest tomografia komputerowa jamy brzusznej (ocena cechy T, N i M) i miednicy (cecha M - przerzuty do narządu rodno) oraz tomografia komputerowa klatki piersiowej (cecha - M). W przypadku zmian wczesnych na śluzówce żołądka zasadne jest wykonanie ultrasonografii endoskopowej, która charakteryzuje się większą dokładnością niż tomografia komputerowa w przypadku guzów T1-T2. Ma to swoje implikacje terapeutyczne w wyborze metody leczenia. W przypadku guzów w stopniu T3 i T4 i w ocenie regionalnych węzłów chłonnych czułość i swoistość tomografii i ultrasonografii endoskopowej jest podobna (27,28). Badanie emisyjnej pozytonowej tomografii komputerowej (PET - CT) w diagnostyce przedoperacyjnej raka żołądka stosuje się w celu wykrycia przerzutów odległych i przerzutów w węzłach chłonnych, natomiast ograniczeniem jest możliwość uzyskania wyników fałszywie ujemnych w przypadku raka syngnetowatokomórkowego i nowotworów o utkaniu śluzowym (29). Z kolei czułość i swoistość badania rezonansu magnetycznego w ocenie zaawansowania choroby jest podobna do badania tomografii komputerowej (11,30).

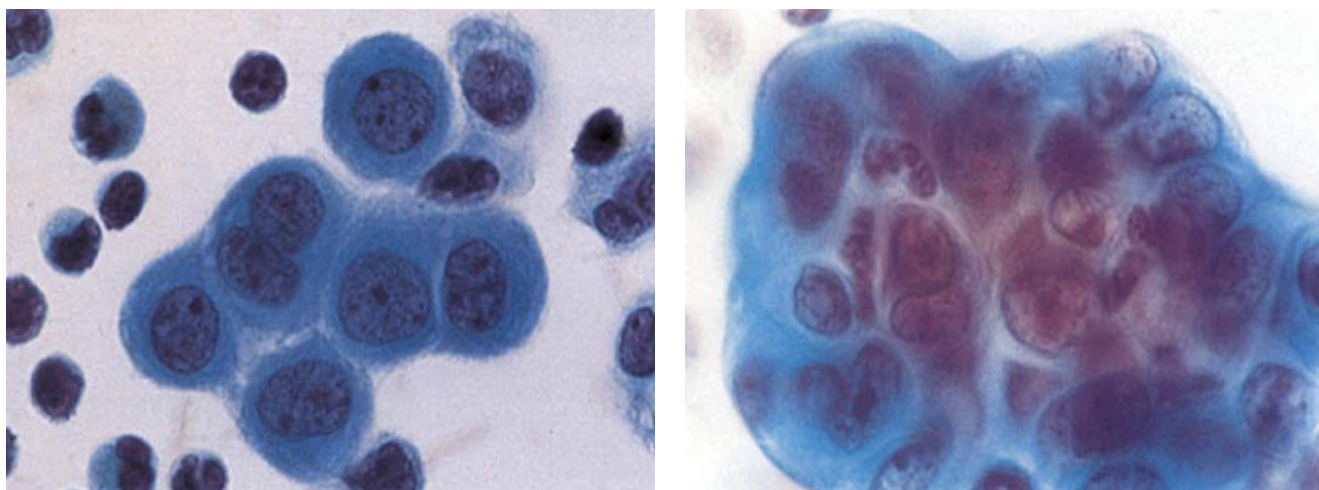
### **1.5.1 Analiza popłuczyn otrzewnowych w diagnostyce przedoperacyjnej raka żołądka**

Diagnostyka przedoperacyjna raka żołądka obejmująca badanie endoskopowe i badania obrazowe nie dostarcza wszystkich niezbędnych informacji do podjęcia prawidłowych decyzji terapeutycznych u pacjentów z rakiem żołądka. Aktualne wytyczne ESMO (European Society of Medical Oncology) i NCCN (National Comprehensive Cancer

Network) uwzględniają dodatkowo w ocenie przedoperacyjnej laparoskopię diagnostyczną i badanie popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka. Zastosowanie diagnostycznej laparoskopii pozwala na wykrycie przerzutów w otrzewnej niewidocznych w wykonanych badaniach obrazowych oraz umożliwia dokładną ocenę miejscowego zaawansowania choroby nowotworowej. Autorzy opublikowanych badań, które oceniały wartość diagnostycznej laparoskopii w ocenie stopnia zaawansowania raka żołądka uważają, iż metoda ta zmniejsza odsetek niepotrzebnie wykonywanych laparotomii nawet o 30%. Ponadto w miejscowo zaawansowanych przypadkach, gdy resekcja radykalna nie jest możliwa w danym momencie - obraz uzyskany podczas laparoskopii stanowi punkt wyjścia do oceny skuteczności chemioterapii indukcyjnej. Nie bez znaczenia w tej sytuacji jest także mniejsza śmiertelność oraz niższy odsetek powikłań pooperacyjnych w stosunku do niepotrzebnie przeprowadzonej laparotomii. Ograniczeniem tej metody jest niska czułość w diagnostyce przerzutów w wątrobie i mała dokładność w ocenie układu chłonnego (31–34).

Pozytywny wynik badania cytologicznego popłuczyn otrzewnowych jest powszechnie znanym negatywnym czynnikiem rokowniczym w raku żołądka. W przeprowadzonych głównie w Azji badaniach udowodniono, że przy obecności wolnych komórek raka w popłuczynach otrzewnowych przeżycia chorych mimo przeprowadzanej resekcji R0 liczone są w miesiącach, a prawie każdy pacjent ma nawrót choroby w postaci rozsiewu otrzewnowego (35–38). Podobne wyniki przeżyć obserwowano wśród pacjentów z pozytywnym wynikiem cytologii i potencjalnie resekcyjnym guzem przy zastosowanej chemioterapii paliatywnej bez leczenia operacyjnego (39).

W 1998 roku Japońskie Towarzystwo Leczenia Raka Żołądka (Japanese Gastric Cancer Association - JGCA) uwzględniło dodatni wynik badania cytologicznego popłuczyn otrzewnowych w klasyfikacji oceniającej stopień zaawansowania raka żołądka. Wynik badania popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka także został uwzględniony w VII edycji klasyfikacji TNM przez Międzynarodową Unię do Walki z Rakiem (UICC). Obecności komórek raka żołądka w płynie po płukaniu jamy otrzewnej klasyfikuje chorego do kategorii M1 i jednocześnie IV stopnia zaawansowania procesu nowotworowego.



*Rycina 6. Porównanie obrazów cytologii otrzewnej. Po stronie lewej – obraz prawidłowy. Po stronie prawej obecność komórek raka w płuczynach otrzewnowych (40).*

### **1.6. Patomechanizm rozsiewu otrzewnowego i metody diagnostyczne wolnych komórek raka w otrzewnej.**

Rozsiew otrzewnowy procesu nowotworowego jest najczęstszą przyczyną niepowodzenia po radykalnym leczeniu operacyjnym raka żołądka. Dotyczy około 50% pacjentów operowanych z powodu nisko zróżnicowanego nowotworu w stopniu zaawansowania T3/T4. Średni czas przeżycia w tym stadium zaawansowania choroby wynosi 3 - 6 miesięcy (41–43). Jednym z czynników rozsiewu otrzewnowego poza stopniem inwazji guza, zajęciem węzłów chłonnych, stopniem zróżnicowania, typem histologicznym wg Laurena, jest obecność wolnych komórek raka w otrzewnej w trakcie leczenia operacyjnego.

Rozsiew otrzewnowy jest procesem wieloetapowym. Dotychczas opisano dwa mechanizmy jego powstawania:

1. Transmesotelialny – polega na złuszczeniu komórek raka z powierzchni pierwotnego guza nowotworowego lub przerzutowo zmienionych węzłów chłonnych (44). Jest to spowodowane niską ekspresją molekuł E – kadheryny na powierzchni komórek raka i wysokim poziomem białka S100 - A4. Taka sytuacja ma miejsce najczęściej w nisko zróżnicowanych komórkach nowotworowych. Do

odszczepienia komórek raka z głównej masy guza dochodzi spontanicznie lub na skutek urazu okołoperacyjnego (manipulacji guzem, śródoperacyjnej perforacji, przecięcia naczyń chłonnych, krwionośnych, limfadenektomii) (45). Wolne komórki raka łączą się z komórkami mesothelium przy pomocy cząsteczek adhezyjnych – CD44. Następnie cytokiny produkowane przez komórki raka powodują fosforylację szkieletu komórkowego i w efekcie kurczenie się i rozszczepianie komórek mesotelialnych na powierzchni otrzewnej. Powstałe przestrzenie są miejscem migracji komórek raka do warstwy podotrzewnowej. Tam dalsze podziały komórek nowotworowych, którym towarzyszą procesy neoangiogenezy powodują powstanie w kolejnych etapach widocznych makroskopowo ognisk rozsiewu otrzewnowego (46–48).

2. Translimfatyczny – czyli drogą tzw. kanałów limfatycznych (stomata) i połączonych z nimi zatok limfatycznych tzw. „milky spots” na otrzewnej, – które odpowiadają za eliminację wszystkich złuszczonej elementów komórkowych z jamy otrzewnowej (w tym także komórek nowotworowych), które ze względu na swoją wielkość nie ulegają wchłonięciu przez barierę krew-otrzewna (49). Kanały limfatyczne zlokalizowane są na około 65% powierzchni otrzewnej (50) – głównie na powierzchni przepony, sieci większej, jamie Douglasa, więzadle sierpowatym i krezce jelita cienkiego. Dostające się poprzez kanały komórki raka produkują cytokiny uszkodzając cienką warstwę mesotelium, która pokrywa te struktury. W rezultacie migracja komórek raka odbywa się do przestrzeni okołolimfatycznej. Następne etapy (prolifерacja, neoangiogeneza) są analogiczne do opisanych w mechanizmie transmesotelialnym.

Dotychczas w literaturze opisano cztery podstawowe metody diagnostyczne wolnych komórek raka w popłuczynach otrzewnowych: klasyczną cytologię otrzewnową, metodę immunohistochemiczną z użyciem przeciwciał przeciwko antygenom obecnym na komórkach nowotworowych (Ber-Ep4, CEA, Ca19-9, B72.3), metodę immunoenzymatyczną (poziom CEA w popłuczynach otrzewnowych) oraz metodę molekularną, w której przy użyciu RT-PCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction Technique) identyfikuje się obecne na komórkach raka żołądka geny – *CEA*, *MMP-7*, *DDD*.

- Analiza cytologiczna jest najczęściej wykorzystywaną metodą diagnostyczną popłuczyn otrzewnowych. Metoda polega na ocenie odwirowanego osadu komórkowego, który jest rozmazywany na szkiełku podstawowym i oceniany przez patomorfologa. Podstawową zaletą jest prostota wykonania, niski koszt i krótki czas analizy. Pomimo wysokiej swoistości podkreśla się jednak niską czułość metody (11 – 80%) w przewidywaniu nawrotu otrzewnowego (50). W publikacji Bando i wsp. autorzy zwrócili uwagę na fakt, iż u 49% pacjentów z nawrotem choroby w postaci rozsiewu otrzewnowego po leczeniu operacyjnym, nie stwierdzono wolnych komórek raka w popłuczynach otrzewnowych (36). Prezentowane w piśmiennictwie wskaźniki detekcji komórek raka przy użyciu metody cytologicznej zależą od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej. W grupie pacjentów potencjalnie resekcyjnych wynoszą od 4% do 11%. Natomiast przy współistniejącym rozsiewie otrzewnowym są wyższe i wynoszą od 23% – do 83% (51).
- Metody immunohistochemiczne oparte są na reakcji przeciwciał monoklonalnych z antygenami obecnymi na komórkach raka żołądka (Ber – Ep4, CEA, Ca19–9, B72.3). Autorzy oceniający w swoich badaniach wartość tej metody podkreślają wyższe wskaźniki detekcji komórek raka o 14% względem klasycznej cytologii. Ponadto w grupie pacjentów zidentyfikowanych wyłącznie przy użyciu metody immuno-histochemicznej obserwuje się podobne wskaźniki nawrotów choroby i przeżyć odległych jak w grupie chorych z pozytywnym wynikiem badania cytologicznego (52).
- W metodzie immunoenzymatycznej ocenia się poziom antygenu karcyno-embryonalnego w popłuczynach otrzewnowych. Wysoki poziom CEA uważa się za czuły wskaźnik rozsiewu otrzewnowego raka żołądka (czułość metody 22% – 70%) (50). W publikacji Wang i wsp. wykazano wyższość metody immunoenzymatycznej w stosunku do klasycznej cytologii w przewidywaniu nawrotu choroby w otrzewnej (67% vs 33%) (53). Podobne wnioski zawarte są w innych badaniach (54,55).
- Badanie molekularne popłuczyn otrzewnowych jest uważane za najbardziej czułą metodę diagnostyczną komórek nowotworowych w popłuczynach



otrzewnowych (czułość metody 31-100%) (50). Przy użyciu RT – PCR identyfikuje się najczęściej gen *CEA* obecny na komórkach raka, rzadziej inne geny - *MMP-7*, *DDD* (56,57). Ograniczeniem metody jest wysoki koszt, czasochłonność oraz wyniki fałszywie dodatnie związane z ekspresją powyższych genów na komórkach nienowotworowych – leukocytach, makrofagach, komórkach śródbłonna (51).

### **1.7. Historia leczenia raka żołądka**

Historia leczenia raka żołądka sięga drugiej połowy XIX wieku. Pierwszym chirurgiem, który wyciął odźwiernik z powodu raka był Jules Emile Pean w 1879 roku, niestety w okresie pooperacyjnym w piątej dobie pacjent zmarł. Rodzina nie wyraziła zgody na wykonanie sekcji zwłok i ostatecznie nie wiadomo czy zgon był spowodowany powikłaniami typowo chirurgicznymi (58). Podobnie niekorzystnie zakończyła się historia pacjenta operowanego z powodu raka odźwiernika w 1890 roku przez polskiego chirurga Ludwika Rydygiera w szpitalu w Chełmnie, leczony przez niego pacjent zmarł 11 godzin po operacji (59). Technika operacyjna zastosowana zarówno przez Peana jak i Rydygiera polegała na wycięciu odźwiernika i zeszczeniu kikuta żołądka z dwunastnicą. Dopiero Theodor Billroth w styczniu 1891 roku w Wiedniu przeprowadza pierwszą zakończoną sukcesem operację wycięcia odźwiernika z odtworzeniem ciągłości przewodu pokarmowego sposobem „koniec do końca”. Operowana przez niego 43 letnia pacjentka Therese Heller nie miała żadnych powikłań pooperacyjnych i opuściła szpital bez dolegliwości w 26 dobie pooperacyjnej. Pacjentka zmarła z powodu nawrotu choroby 4 miesiące po operacji (60). Pierwszą całkowitą resekcję żołądka z powodu raka, ale niestety bez powodzenia wykonał w 1884 roku w Stanach Zjednoczonych Connor, natomiast pierwsza zakończona sukcesem operacja całkowitego usunięcia żołądka przeprowadzona została przez Karla Schlattera w 1897 roku w Szwajcarii. Operowaną była 56 letnia chora, której po usunięciu żołądka wykonano zespolenie przełykowo – jelitowe, w okresie pooperacyjnym nie stwierdzono istotnych powikłań. Pacjentka zmarła po 12 miesiącach z powodu nawrotu choroby nowotworowej (61). Warto zauważyć, iż wskazaniem w owych czasach do leczenia operacyjnego były powikłania choroby nowotworowej w postaci niedrożności

odźwiernika, a wyczuwalny guz w badaniu przedmiotowym i skrajnie zły stan ogólny chorego świadczył o dużym zaawansowaniu choroby w trakcie podejmowanych prób leczenia operacyjnego. Początek XX wieku był okresem stagnacji w leczeniu operacyjnym raka żołądka, wiązało się to wysokim odsetkiem powikłań i bardzo wysoką śmiertelnością okołoperacyjną. Dopiero rozwój anestezjologii, antyseptyki, technik diagnostycznych spowodował, że odsetek tych powikłań zmniejszył się do poziomu 20 – 30% w latach 60 – tych dwudziestego wieku. Dalszy rozwój technik chirurgicznych, nabywanie doświadczenia oraz rozwój sprzętu (koagulacja, staplery) spowodował, iż obecnie śmiertelność okołoperacyjna jest niewielka i zabieg całkowitego usunięcia żołądka z powodu raka jest zabiegiem bezpiecznym.

## **1.8. Leczenie raka żołądka**

W celu osiągnięcia jak najlepszych wyników leczenia w oparciu o wyniki publikowanych badań, rak żołądka powinien być leczony w sposób skojarzony (leczenie chirurgiczne, chemioterapia, chemioradioterapia, immunoterapia), a decyzje terapeutyczne powinny być obligatoryjnie podejmowane przez zespoły wielodyscyplinarne w oparciu o stopień zaawansowania choroby nowotworowej i uzyskane wcześniej dane histopatologiczne.

### **1.8.1 Leczenie raka wczesnego**

W Polsce w związku z brakiem badań przesiewowych oraz w związku z opóźnieniami w diagnostyce nieswoistych objawów dyspeptycznych rozpoznanie raka żołądka na tym etapie zaawansowania jest rzadkie (6%) (22). Na przeciwległym biegunie są kraje azjatyckie (Japonia, Korea) gdzie odsetek raków wczesnych dotyczy co najmniej połowy pacjentów (23). Prowadzone w tych krajach badania potwierdziły, iż ryzyko przerzutów raka do węzłów chłonnych, gdy stopień inwazji ograniczony jest do błony śluzowej wynosi 3–4%, natomiast, gdy naciek obejmuje błonę podśluzową częstość przerzutów sięga 20% (11,14), ponadto stwierdzono, iż ryzyko przerzutowania jest większe, gdy wielkość zmiany przekracza 20 milimetrów, rak jest niskozróżnicowany, współistnieje owrzodzenie oraz naciekanie naczyń (62). Uzyskane informacje pozwoliły na uwzględnienie w wytycznych japońskich technik endoskopowych w radykalnym leczeniu raka żołądka we wczesnych stopniach zaawansowania. Zgodnie z aktualnie

obowiązującymi w Polsce wytycznymi (Polski Konsensus Leczenia Raka Żołądka - aktualizacja 2013 rok) rak wczesny żołądka (IA) ograniczony do błony śluzowej (T1a), dobrze zróżnicowany, o średnicy mniejszej niż 2 cm, bez owrzodzenia, zlokalizowany w dystalnej części żołądka, w związku z bliskim zeru ryzyku przerzutów do węzłów chłonnych może być leczony w technikach endoskopowych. W tym celu wykonuje się mukozektomię endoskopową (Endoscopic Mucosal Resection - EMR) oraz dyssekcję podśluzówkową (Endoscopic Submucosal Dissection - ESD). Kryteria te mogą zostać rozszerzone dla raków T1a o wciąż małym ryzyku przerzutów do węzłów chłonnych w następujących sytuacjach: 1) wysokozróżnicowany rak, bez owrzodzenia o wymiarze większym niż 2 cm; 2) wysokozróżnicowany rak z owrzodzeniem o wymiarze mniejszym niż 3 cm. 3) niskozróżnicowany rak bez owrzodzenia o wymiarze mniejszym niż 2 cm. W tych przypadkach zalecana jest dyssekcja podśluzówkowa. Jeśli resekcja endoskopowa nie spełnia kryteriów resekcji radykalnej (R0) lub w badaniu histopatologicznym ostatecznie istnieją czynniki ryzyka wystąpienia przerzutów do węzłów chłonnych (niskie zróżnicowanie, gdy zmiana jest powyżej 2 cm i owrzodzenie przy zmianach powyżej 3 cm, głębsza inwazja, naciekanie naczyń limfatycznych lub żylnych), wskazane jest leczenie chirurgiczne. Zabieg operacyjny w raku wczesnym żołądka jest także wskazany, gdy rak nacieka błonę podśluzową (T1b) lub w przypadku wieloogniskowości zmian. Zakres limfadenektomii powinien obejmować węzły z zakresu D1+ (63).

### **1.8.2. Leczenie raka zaawansowanego**

#### Leczenie chirurgiczne raka zaawansowanego

W zaawansowanym raku żołądka (stopień IB-III) podstawową metodą leczenia jest leczenie operacyjne, którego nadrzędnym celem jest radykalne usunięcie wszystkich zmian nowotworowych. Zakres resekcji żołądka jest szeroko dyskutowany. W wytycznych japońskich i koreańskich podstawowym rekomendowanym zabiegiem jest częściowa resekcja żołądka (64), natomiast w Polsce zgodnie z wytycznymi Polskiego Konsensusu Leczenia Raka Żołądka, zalecanym sposobem leczenia jest całkowite wycięcie żołądka. Ograniczenie zakresu operacji do częściowej resekcji żołądka jest możliwe w przypadku, gdy guz zlokalizowany jest obwodowo w żołądku (proksymalnie

wielkość niezajętego przez raka marginesu nie może być mniejsza niż 5 centymetrów), stopień inwazji  $T \leq 2$  i jest to typ jelitowy według Laurena. Rozszerzone resekcje wielonarządowe w przypadku naciekania raka żołądka (ogon trzustki, śledziona, poprzecznicą, lewy płąt wątroby) są wskazane tylko w przypadku, gdy resekcja będzie miała charakter operacji R0 oraz stan ogólny chorego pozwoli na wykonanie rozległej operacji.

Przy czym należy podkreślić, że zakres limfadenektomii w zaawansowanym raku żołądka niezależnie od zakresu resekcji powinien obejmować węzły, co najmniej do przedziału D2 (63).

Taktyka postępowania chirurgicznego w gruczolakorakach połączenia przełykowo – żołądkowego zależy od lokalizacji guza według klasyfikacji Siewerta (63,65).

- Typ I – laparotomia i prawostronna torakotomia z usunięciem dolnego piersiowego odcinka przełyku z węzłami chłonnymi nadbrzusza i śródpiersiowymi.
- Typ II – całkowita resekcja żołądka z resekcją dolnego odcinka przełyku z dostępu przezrozworowego z limfadenektomią D2 rozszerzoną o węzły chłonne tylnego dolnego śródpiersia.
- Typ III – całkowita resekcja żołądka z limfadenektomią D2 rozszerzoną o węzły chłonne tylnego dolnego śródpiersia.

W ostatnich latach systematycznie wzrasta liczba operacji laparoskopowych i w technice robotowej w leczeniu raka żołądka (66–69). Początkowo w latach 90 - tych były to procedury zarezerwowane dla wczesnych postaci raka żołądka. Obecnie poprzez wzrost doświadczenia i ciągle udoskonalanie instrumentarium zakres wykonywanej operacji raka zaawansowanego żołądka w technice małoinwazyjnej jest taki sam jak w technice otwartej. Na podstawie przeprowadzonych dotychczas badań, biorąc pod uwagę czas 5 - letniego przeżycia, nie ma wystarczających danych, aby stwierdzić, że są to metody równorzędne gastrektomii klasycznej w zaawansowanym raku żołądka. Podkreśla się natomiast bezpieczeństwo procedury oraz krótszy czas hospitalizacji chorych operowanych technikami małoinwazyjnymi. Przed opublikowaniem ostatecznych wyników toczących się w Azji randomizowanych badań procedury

laparoskopowe i robotowe powinny być wykonywane w ośrodkach wysokospecjalistycznych i doświadczonych w stosowaniu tych metod leczenia (63,70).

### Limfadenektomia w raku żołądka

Spośród wszystkich form szerzenia się raka żołądka najczęściej występują przerzuty do węzłów chłonnych, a potencjał przerzutowania wzrasta wraz z głębokością inwazji raka w ścianie żołądka. Zajęcie węzłów chłonnych obok głębokości inwazji guza nowotworowego jest najsilniejszym negatywnym czynnikiem rokowniczym (71–74). Ponadto w piśmiennictwie podkreśla się znaczenie liczby węzłów chłonnych zajętych przez chorobę nowotworową. Jeśli odsetek węzłów zajętych do liczby węzłów usuniętych (tzw. wskaźnik węzłów chłonnych – lymph node ratio – LNR) jest większy od 20% to oczekiwana długość przeżycia jest wyraźnie gorsza niż w przypadku, gdy ten odsetek nie przekracza 20% (75–77).

Tabela nr 5 przedstawia podział na stacje węzłów chłonnych okołożołądkowych zaproponowany przez Japońskie Towarzystwo Leczenia Raka Żołądka (Japanese Gastric Cancer Association – JGCA). Na tej podstawie powstał przedstawiony niżej podział na odpowiednie zakresy limfadenektomii:

Zakres usunięcia węzłów chłonnych przy całkowitej resekcji żołądka:

- D0 – limfadenektomia w zakresie mniejszym niż D1
- D1 – limfadenektomia w zakresie węzłów chłonnych stacji 1-7
- D1+ – limfadenektomia w zakresie węzłów chłonnych D1 oraz dodatkowo stacji: 8a,9,11p
- D2 – limfadenektomia w zakresie węzłów chłonnych D1 oraz dodatkowo stacji: 8a,9,10,11p,11d,12a, a ponadto w przypadku raka naciekającego przełyk dodatkowo należy usunąć węzły chłonne ze stacji 19,20,110,111
- D2+ – limfadenektomia w zakresie D2, oraz dodatkowo stacji: 16,19,20,110,111

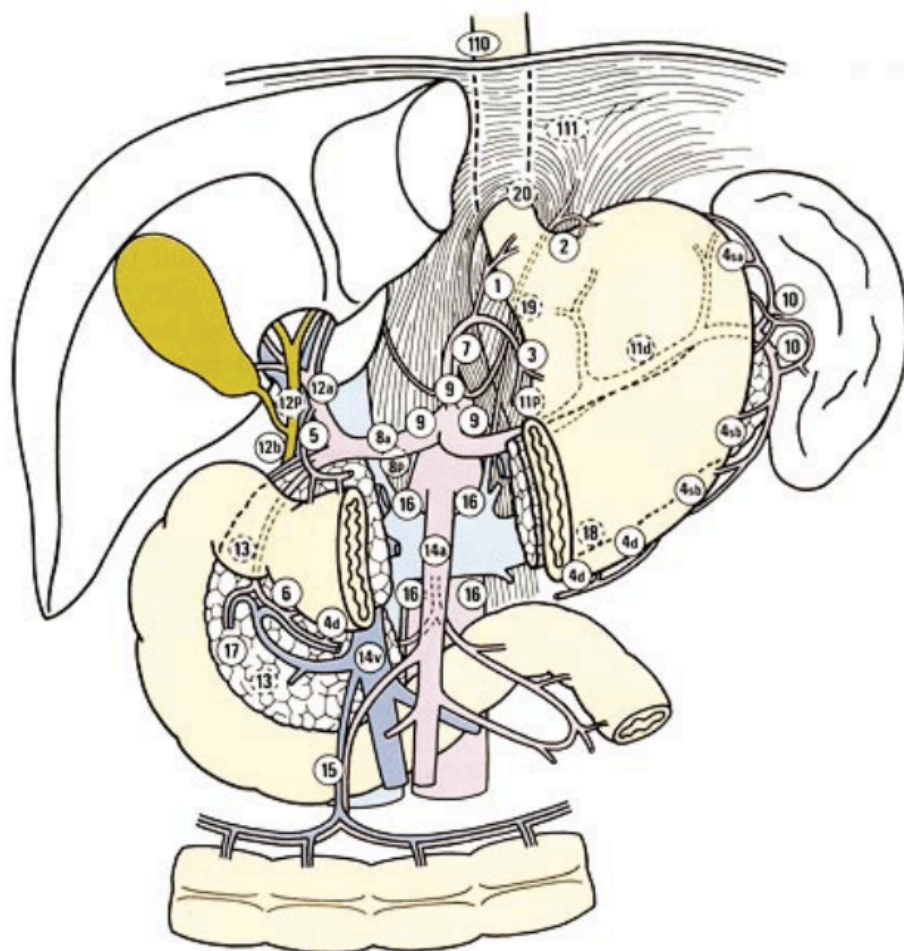
## Zakres usunięcia węzłów chłonnych przy obwodowej resekcji żołądka:

- D0 – limfadenektomia w zakresie mniejszym niż D1
- D1 – limfadenektomia w zakresie węzłów chłonnych stacji 1,3,4sb,4d,5,6,7
- D1+ - limfadenektomia w zakresie węzłów chłonnych D1 oraz dodatkowo stacji: 8a,9
- D2 - limfadenektomia w zakresie węzłów chłonnych D1 oraz dodatkowo stacji: 8a,9,11p,12a

*Tabela 5. Regionalne węzły chłonne według JGCA (40)*

1 - węzły wpustowe prawe
2 - węzły wpustowe lewe
3 - węzły położone wzdłuż krzywizny mniejszej
4sa - węzły położone wzdłuż naczyń żołądkowych krótkich
4sb - węzły położone wzdłuż naczyń żołądkowo-sieciowych lewych
4d - węzły położone wzdłuż naczyń żołądkowo-sieciowych prawych
5 - węzły nadodźwiernikowe
6 - węzły pododźwiernikowe
7 - węzły położone wzdłuż tętnicy żołądkowej lewej
8a - węzły położone wzdłuż tętnicy wątrobowej wspólnej (grupa przednio-górna)
8p - węzły położone wzdłuż tętnicy wątrobowej wspólnej (grupa tylna)
9 - węzły położone wokół pnia trzewnego
10 - węzły wnęki śledziony
11p - węzły położone wzdłuż bliższej części tętnicy śledzionowej
11d - węzły położone wzdłuż dalszej części tętnicy śledzionowej
12a - węzły więzadła wątrobowo-dwunastniczego (wzdłuż tętnicy wątrobowej właściwej)
12b - węzły więzadła wątrobowo-dwunastniczego (wzdłuż przewodu żółciowego)
13 - węzły na tylnej powierzchni głowy trzustki
14 - węzły położone wzdłuż żyły kręzkowej górnej
15 - węzły położone wzdłuż naczyń okrężniczych środkowych
16 a1 - węzły położone w rozworze aortalnym
16 a2 - węzły położone wokół aorty brzusznej (od górnego brzegu pnia trzewnego do dolnego brzegu żyły nerkowej lewej)
16 b1 - węzły położone wokół aorty brzusznej (od dolnego brzegu żyły nerkowej lewej do górnego brzegu tętnicy kręzkowej dolnej)
16 b2 - węzły położone wokół aorty brzusznej (od górnego brzegu tętnicy kręzkowej dolnej do rozwidlenia aorty)
17 - węzły położone na przedniej powierzchni głowy trzustki

- 18 - węzły położone wzdłuż dolnego brzegu trzustki
- 19 - węzły podprzeponowe
- 20 - węzły położone w rozwarze przełykowym przepony
- 110 - węzły okołoprzełykowe w dolnej części klatki piersiowej
- 111 - węzły nadprzeponowe
- 112 - węzły śródpiersiowe tylne



Rycina 7. Stacje węzłów chłonnych okołozołądkowych (40).

Aktualnie zgodnie z wytycznymi UICC TNM z 2010 r (VII edycja) w preparacie pooperacyjnym powinno zostać ocenione, co najmniej 16 węzłów chłonnych by właściwie określić stopień zaawansowania choroby (18). Badania niemieckie nad rakiem żołądka pokazały, aby właściwie wykonać limfadenektomię D2 liczba węzłów

nie powinna być mniejsza niż 25. Autorzy tej pracy wykazali, że chorzy, którym usunięto 25 węzłów chłonnych mają lepsze rokowanie niż pacjenci, u których usunięto mniejszą liczbę (77).

Zakres limfadenektomii w raku żołądka przez lata był mocno dyskutowany. W prowadzonych w latach 90-tych badaniach randomizowanych w Holandii (Dutch Gastric Cancer Trial) (78) oraz w Wielkiej Brytanii (UK Medical Research Council Trial) (79) nie wykazano przewagi limfadenektomii D2 nad D1. W trakcie limfadenektomii D2 obserwowano istotnie statystycznie większą ilość powikłań i śmiertelność okołoperacyjną. Po 15 latach obserwacji opublikowano wyniki ponownej analizy pacjentów randomizowanych w badaniu holenderskim. Wykazano mniej nawrotów miejscowych i mniejszą ilość zgonów z powodu raka żołądka w grupie chorych, u których wykonano limfadenektomię D2 oraz stwierdzono, iż na dane dotyczące wyższej śmiertelności w uzyskanych poprzednio wynikach w grupie chorych poddanych resekcji z limfadenektomią D2 mogły częściowo mieć wpływ jednoczesowe resekcje śledziony i obwodowej części trzustki. We wnioskach autorzy rekomendują limfadenektomię D2 (bez resekcji trzustki i śledziony), jako procedurę, która powinna być stosowana u pacjentów operowanych z powodu raka żołądka (80).

Należy zauważyć, że poza przedstawionymi powyżej badaniami randomizowanymi porównującymi zakres limfadenektomii, gdzie dane zbierane były z wielu szpitali – często z niewielkim doświadczeniem w leczeniu operacyjnym raka żołądka, istnieje szereg publikacji często z wysokospecjalistycznych ośrodków, leczących dużą ilość chorych na raka żołądka wykazujących niewielką ilość powikłań i poprawę rokowania po stosowaniu limfadenektomii D2 (81,82).

Aktualnie u pacjentów leczonych radykalnie z powodu raka żołądka według wytycznych obowiązuje limfadenektomia D2 (63,64,70). Taki zakres nie dotyczy chorych z wczesnym rakiem żołądka (T1a) zakwalifikowanych do radykalnego leczenia endoskopowego oraz chorych, których zabieg ma charakter paliatywny (resekcja R2). W przypadku raka wczesnego niekwalifikującego się do leczenia endoskopowego można ograniczyć zakres limfadenektomii do D1+. Natomiast w związku z większą ilością powikłań okołoperacyjnych i brakiem wpływu na poprawę 5 – letnich przeżyć nie zaleca się rutynowo rozszerzania limfadenektomii D2 o stacje węzłów okołoaortalnych (D2+)(83).



## Leczenie skojarzone raka zaawansowanego

Pomimo, iż resekcja chirurgiczna jest podstawową metodą terapii w zaawansowanym raku żołądka, istnieją dane literaturowe wskazujące na poprawę wyników leczenia, gdy leczenie jest skojarzone z chemioterapią lub radiochemioterapią.

W Stanach Zjednoczonych przeprowadzono randomizowane wielośrodkowe badania III fazy US Intergroup - 0116, oceniające skuteczność chemioradioterapii po zabiegu operacyjnym u pacjentów z rakiem żołądka i połączenia przełykowo – żołądkowego. Autorzy badania wykazali, iż stosowanie chemioradioterapii pooperacyjnej zwiększa odsetek 3 - letnich przeżyć o 11% w porównaniu z samym tylko leczeniem operacyjnym (36 wobec 27 miesięcy;  $p=0.005$ ) (84). Po przedstawieniu wyników tego badania w 2001 roku chemioradioterapia pooperacyjna została uznana w USA za standardowe leczenie uzupełniające dla leczenia operacyjnego raka żołądka. Pomimo pozytywnych wniosków tego badania, było ono krytykowane na gruncie europejskim z powodu niskiej jakości chirurgii. Tylko 10% pacjentów miało wykonaną limfadenektomię D2, zaś 54% mniejszą niż D1. Stąd też chemioradioterpię w leczeniu adiuwantowym w Europie wykorzystuje się głównie do leczenia pacjentów po nieadekwatnej limfadenektomii (mniej niż 15 węzłów chłonnych w preparacie) lub po operacji mikroskopowo nieradykalnej (R1) (26,28,85). Należy jednak zauważyć, iż w piśmiennictwie pojawiły się publikacje potwierdzające fakt, iż korzystny efekt radioterapii utrzymuje się także u pacjentów, u których wykonano limfadenektomię D2 (86,87).

W 2006 roku na łamach NEJM (The New England Journal of Medicine) zostały opublikowane wyniki randomizowanego brytyjskiego badania III fazy MAGIC (MCR Adjuvant Gastric Cancer Infusional Chemotherapy). W badaniu porównano wyłącznie leczenie operacyjne z leczeniem w postaci operacji wraz z przedoperacyjną i pooperacyjną chemioterapią odpowiednio trzema cyklami ECF (epirubicyna, cisplatyna, fluorouracyl) u pacjentów w II i III stopniu zaawansowania raka żołądka. Wykazano zwiększenie o 13% (z 23% do 36% ( $p=0.009$ )) odsetka 5 – letnich przeżyć pacjentów otrzymujących chemioterapię okołoperacyjną. Ponadto wykazano, iż leczenie to zwiększa odsetek operacji radykalnych oraz wydłuża przeżycie bez progresji choroby(88).

Podobne wnioski wysunięto z toczącego się równolegle francuskiego badania FFCD 9703. Autorzy tej pracy porównali skuteczność chemioterapii okołoperacyjnej

(cisplatyna/5 – Fu (fluorouracyl)) w schemacie 2-3 cykle przed i 3-4 cykle chemioterapii po resekcji) z samym tylko leczeniem operacyjnym, u pacjentów z gruczolakorakiem połączenia przełykowo – żołądkowego. Zastosowanie chemioterapii okołoperacyjnej w tym badaniu wpłynęło istotnie statystycznie na zwiększenie odsetka 5- letniego przeżycia (z 24 do 38%;  $p=0.002$ ) (89).

Publikacja powyżej przedstawionych badań spowodowała, iż chemioterapia okołoperacyjna stała się nowym standardem postępowania w leczeniu raka żołądka II i III stopniu zaawansowania w krajach europejskich.

W krajach azjatyckich przeprowadzono badania ACTS – GC i CLASSIC oceniające skuteczność chemioterapii pooperacyjnej po zabiegu resekcyjnym z limfadenektomią D2 (90,91). Na podstawie uzyskanych wyników do standardu postępowania w radykalnym leczeniu raka żołądka włączono chemioterapię adiuwantową S1 (tegafur, gimeracyl, oteracyl). Niestety różnice w farmakokinetyce S1 wynikające z innych właściwości CYP2A6 (enzym odpowiedzialny za metabolizm S1) w populacji kaukaskiej nie pozwalają na osiągnięcie tak wysokich stężeń tego leku, co powoduje jego niską skuteczność w krajach nieazjatyckich. Ponadto, pomimo że istnieją metaanalizy spoza Azji wskazujące, że chemioterapia pooperacyjna może wydłużać przeżycia w stosunku do wyłącznie leczenia operacyjnego, nie jest to postępowanie standardowe i na chwilę obecną nie zaleca się rutynowego stosowania.

### **1.8.3. Leczenie raka żołądka w stadium rozsiewu**

Rozsiew choroby nowotworowej jest wskazaniem do chemioterapii paliatywnej. Nadrzędnym celem leczenia w tym stadium zaawansowania raka żołądka jest wydłużenie czasu przeżycia wolnego od nawrotu choroby i przeżycia całkowitego. Przy doborze optymalnego schematu leczenia poza zaawansowaniem choroby należy uwzględnić stan chorego i toksyczny profil działania leku. Aktualnie uważa się, że najskuteczniejsze są schematy 3 – lekowe zawierające sole platyny, fluoropirymidyny oraz antracyklinę (EOX, ECF, ECX) (28). W latach 80 – tych i 90 – tych pojawiły się publikacje opisujące zjawisko nadmiernej ekspresji receptora HER2 u chorych na raka żołądka, a także wykazano gorsze rokowanie u chorych przy współistniejącej ekspresji HER2. To spowodowało możliwość stosowania terapii ukierunkowanej molekularnie. W badaniu ToGA (Trastuzumab for Gastric Cancer) wykazano, że trastuzumab skojarzony z

chemioterapią wydłuża czas przeżycia u chorych na niesyzykcyjnego lub rozsianego raka żołądka o 3 miesiące w porównaniu z wyłącznie stosowaną chemioterapią (13,8 w stosunku do 11,1 miesiąca;  $p=0,0046$ ). Autorzy tego badania zaznaczyli, iż największą korzyść odnoszą chorzy z nadekspresją receptora HER2 ocenioną w badaniu immunohistochemicznym na 3+ (17,9 w stosunku 12,3 miesiąca). Powyższe badanie wskazuje na celowość stosowania trastuzumabu wraz z chemioterapią u pacjentów w IV stopniu zaawansowania raka żołądka wykazujących nadmierną ekspresję HER2 (92).

Radykalne leczenie operacyjne w IV stadium zaawansowania choroby nowotworowej jest możliwe w przypadku ograniczonego zajęcia otrzewnej. Wyniki badań przedstawionych w literaturze wskazują, iż przeprowadzenie zabiegu operacyjnego – cytoredukcyjnego w połączeniu z dootrzewnową chemioterapią w hipertermii (Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy – HIPEC) u wybranej grupy chorych może przynieść korzyści (93). Paliatywne zabiegi chirurgiczne – zespolenia omijające, paliatywne resekcje, zabiegi endoskopowe, wykonuje się u pacjentów głównie z powikłaniami choroby nowotworowej – perforacja, niedrożność, krwawienie.

### **1.9 Przeżycia w raku żołądka**

Wskaźniki przeżyć 5 – letnich w raku żołądka zależą od stopnia zaawansowania. W raku wczesnym żołądka wynoszą powyżej 90%, natomiast w raku zaawansowanym odsetek ten jest znacznie niższy. W Europie średni wskaźnik przeżyć 5 – letnich wg danych EUROCORE – 5 wynosi 25,1%. Najlepsze wyniki odnotowano w krajach Europy Centralnej i Południowej szczególnie we Włoszech (32,4%), Portugalii (31,8%), Szwajcarii (31,6%), Niemczech (31,3%), natomiast w Polsce podobnie jak w innych krajach Europy Wschodniej, Wielkiej Brytanii i Irlandii jest znacznie niższy, dla Polski wynosi 15,6% (94).

### **3. CELE PRACY**

1. Ocena obecności wolnych komórek raka żołądka w popłuczynach otrzewnowych u pacjentów zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego.
2. Identyfikacja czynników predysponujących do wystąpienia pozytywnego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych.
3. Odpowiedź na pytanie jak obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych wpływa na wyniki leczenia pacjentów leczonych operacyjnie z powodu raka żołądka, a w szczególności czy leczenie operacyjne w zamiarze radykalne jest właściwą formą terapii u pacjentów z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych.

### **3. MATERIAŁ I METODY**

#### **3.1 Charakterystyka grupy badanej**

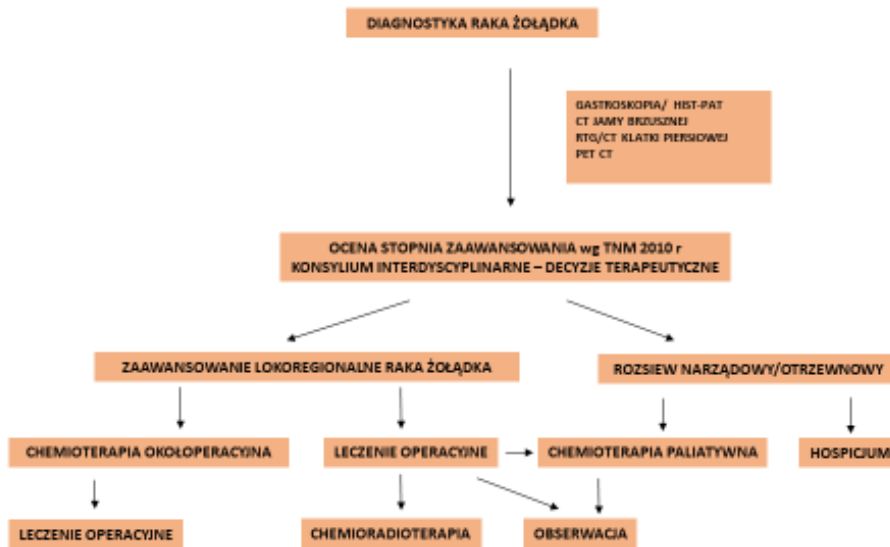
W okresie od 1.07.2014 r. do 31.12.2016 r. w Oddziale Chirurgii Onkologicznej i Ogólnej Wielkopolskiego Centrum Onkologii w Poznaniu operowano 100 chorych z rozpoznaniem raka żołądka, u których przeprowadzono analizę cytologiczną i immunohistochemiczną popłuczyn otrzewnowych. Badanie popłuczyn wykonane zostało w Katedrze i Zakładzie Patologii i Profilaktyki Nowotworów Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Wszyscy pacjenci mieli potwierdzone rozpoznanie histopatologiczne gruczolakoraka żołądka lub połączenia przełykowo – żołądkowego. Z analizy wykluczono inne rzadsze typy histopatologiczne nowotworów żołądka (GIST, nowotwory neuroendokrynne i chłoniaki).

Przed podjęciem decyzji terapeutycznych oceniono stopień zaawansowania choroby nowotworowej. Każdy pacjent miał wykonane badanie endoskopowe górnego odcinka przewodu pokarmowego, badanie tomografii komputerowej jamy brzusznej, zdjęcie przeglądowe lub tomografię komputerową klatki piersiowej. Standardowo nie wykonywano w ocenie przedoperacyjnej badania endoultrasonografii endoskopowej i laparoskopii diagnostycznej. Część chorych w wyższym wyjściowo stopniu zaawansowania choroby nowotworowej miała wykonane badanie PET – CT w celu wykluczenia rozsiewu nowotworowego.

Na podstawie wyników uzyskanych z przeprowadzonych badań, chorych sklasyfikowano zgodnie z wytycznymi VII edycji klasyfikacji TNM z 2010r. Decyzją konsylium wielospecjalistycznego pacjent z miejscowym lub lokoregionalnym zaawansowaniem choroby był kandydatem do leczenia radykalnego (chemioterapii okołoperacyjnej/radykalnego zabiegu chirurgicznego/radiochemioterapii pooperacyjnej). Pacjenci w IV stopniu zaawansowania kierowani byli do leczenia paliatywnego (chemioterapia paliatywna). Zgodnie z aktualnymi wytycznymi kandydatami do pierwotnego leczenia operacyjnego byli chorzy w stopniu zaawansowania klinicznego T1-T2/N0, bądź chorzy z przeciwwskazaniami do chemioterapii okołoperacyjnej. Natomiast w wyższych stopniach zaawansowania guza

nowotworowego (T3-T4) i/lub w przypadku zajęcia węzłów chłonnych okołożołądkowych (N+) zabieg operacyjny poprzedzony był zastosowaniem chemioterapii okołoperacyjnej (rycina nr 8)



Rycina 8. Algorytm diagnostyczno – terapeutyczny stosowany w raku żołądka.

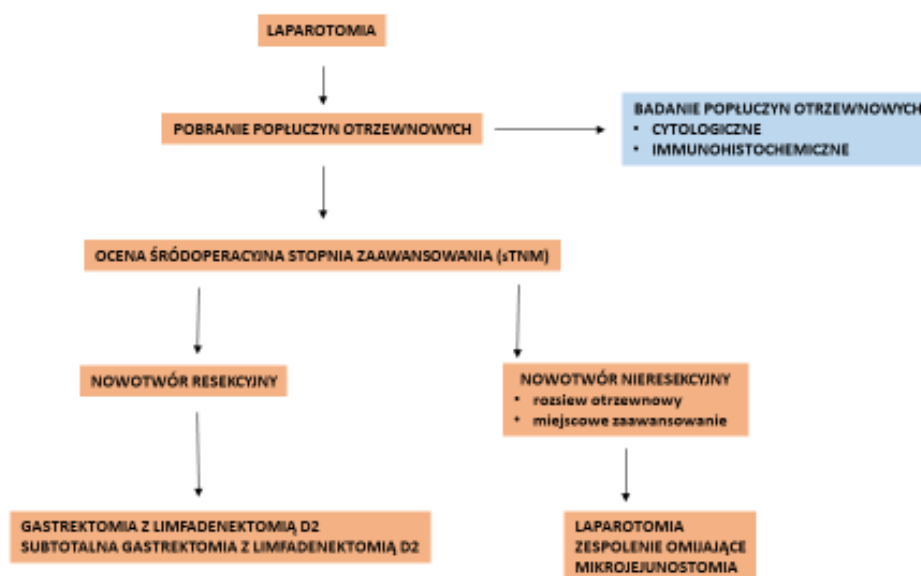
### **3.2 Kryteria włączenia do badania**

- Typ histopatologiczny – gruczolakorak żołądka zakwalifikowany do leczenia operacyjnego
- Stopień klinicznego zaawansowania – I – III (brak widocznego rozsiewu nowotworowego w badaniach obrazowych)
- Zgoda chorego na przeprowadzenie badania

### **3.3 Kryteria wyłączenia z badania**

- Współistnienie innej choroby nowotworowej
- Rozsiew otrzewnowy/narządowy stwierdzony w badaniach obrazowych przedoperacyjnych
- Inny niż gruczolakorak typ histologiczny nowotworu żołądka
- Brak zgody chorego na przeprowadzenie badania

Ostateczna ocena stopnia zaawansowania choroby nowotworowej przeprowadzona została w trakcie laparotomii pacjentów zakwalifikowanych do zabiegu operacyjnego. W przypadku stwierdzenia rozsiewu otrzewnowego/narządowego, który niewidoczny był w wykonanych wcześniej badaniach obrazowych lub w przypadku miejscowego zaawansowania guza uniemożliwiającego radykalne leczenie operacyjne zabieg miał charakter paliatywny (laparotomia, zespolenie omijające, mikrojejunostomia, gastrostomia). W przypadku, gdy ocena śródoperacyjna wykluczała powyższe sytuacje przeprowadzano radykalne leczenie operacyjne (całkowite lub prawie całkowite wycięcie żołądka) z limfadenektomią w zakresie D2. Ciągłość przewodu pokarmowego odtwarzano sposobem Roux-Y po całkowitej resekcji żołądka i sposobem Billroth II po prawie całkowitej resekcji żołądka (rycina nr 9).



Rycina 9. Schemat przedstawiający decyzje diagnostyczno - terapeutyczne w trakcie zabiegu operacyjnego.

Po leczeniu operacyjnym i uzyskaniu wyników badań histopatologicznych (pTNM), decyzją konsylium wielospecjalistycznego pacjentów kwalifikowano do obserwacji w poradni onkologicznej, kontynuacji chemioterapii okołoperacyjnej, radiochemioterapii pooperacyjnej lub chemioterapii paliatywnej.

W trakcie zabiegu operacyjnego zaraz po otwarciu jamy otrzewnowej pobierano popłuczyny otrzewnowe w celu identyfikacji wolnych komórek raka żołądka w otrzewnej.

### 3.4 Metodologia procedury pobrania i oceny popłuczyn otrzewnowych

Badanie popłuczyn otrzewnowych wykonywano niezależnie od rodzaju zabiegu operacyjnego. Po otwarciu jamy otrzewnowej w okolicę guza żołądka podawano 300 ml soli fizjologicznej o temperaturze 37 st. C. Po około 30 sekundach odzyskiwano 100 ml popłuczyn, które natychmiast przekazywano do Katedry i Zakładu Patologii i Profilaktyki Nowotworów celem badania cytologicznego i immunohistochemicznego. W



pierwszym etapie plyn poddawano odwirowaniu uzyskujac na dnie osad. Z osadu otrzymywano preparaty cytologiczne, ktore nastepnie byly barwione metoda hematoksyliny i eozyny. Pozostala czesc osadu posluzyla do wykonania cytobloczkow parafinowych. W dalszej kolejnosci z otrzymanych cytobloczkow skrawano skrawki parafinowe o grubosci 4,5 µm, ktore uzyto do dalszych barwień podstawowych oraz immunohistochemicznych z wykorzystaniem pierwotnych przeciwciał przeciwko Ber-EP4, CK7/20 i B72.3 oraz systemem detekcji EnVisio (Dako).

### **3.5 Metody immunohistochemiczne**

W oznaczeniach immunohistochemicznych zastosowano kompleks EnVision/HRP. Preparaty ze skrawkami parafinowymi zostaly umieszczone w aparacie PT-Link celem deparafinizacji i odkrywania antygenów. Aparat napełniono roztworem roboczym EnVision™ FLEX Substrate Working Solution w temperaturze 97 stopni Celsjusza na 20 minut. Po tym czasie preparaty zostawiono w aparacie PT-Link do czasu osiągnięcia przez bufor roboczy temperatury 65 stopni Celsjusza. Nastepnie zanurzono preparaty w rozcieńczonym buforze EnVision FLEX Wash Buffer (20x) o temperaturze pokojowej na czas 10 minut. Tak przygotowane preparaty przełożono do autostainera, w którym zastosowano na czas 5 minut bloker endogennej peroksydazy a nastepnie przeciwciało pierwszorzędowe RTU (Ber-EP4, CK7, CK20 oraz B72.3) na czas 20 minut. Po tym czasie uzyto polimeru (przeciwciało drugorzędowe + HRP) na czas 20 minut. W nastepnej kolejnosci na preparaty zostal naniesiony DAB na czas 10 minut. Uzyskane preparaty przez 5 minut barwiono hematoksyliną, a nastepnie, po wyjęciu z autostainera, przeprowadzono przez szereg alkoholi i ksylenów. Gotowe preparaty zatopiono przy użyciu Pertex Mounting Medium.

### **3.6 Interpretacja wyników**

Na podstawie uzyskanych wyników badania cytologicznego i immunohistochemicznego popluczyn otrzewnowych, chorych operowanych z powodu raka żołądka podzielono na dwie grupy:

- Grupa I zwana dalej grupą fcc (+) – wynik badania na obecność wolnych komórek raka w popluczynach otrzewnowych w powyższych badaniach był pozytywny

- Grupa II zwana dalej grupą fcc (-) – wynik badania na obecność wolnych komórek raka w płuczninach otrzewnowych był negatywny.

Wyniki badań zestawiono z poniżej wymienionymi danymi:

- danymi klinicznymi (wiek, płeć)
- wynikami badań diagnostycznych przedoperacyjnych:
  - endoskopowych
  - histopatologicznych
  - wynikami markerów nowotworowych w surowicy krwi (CEA, Ca19-9, Ca72.4)
- oceną śródoperacyjną dokonaną przez operatora (sTNM)
- wynikiem badania histopatologicznego materiału pooperacyjnego
  - stopień zróżnicowania (G)
  - inwazja guza (T)
  - zajęcie węzłów chłonnych (N)
  - obecność rozsiewu otrzewnowego i/lub przerzutów odległych (M)
  - typ histologiczny wg Laurena
  - lokalizacja raka w żołądku

W pierwszej części pracy porównano ze sobą grupę fcc (+) i fcc (-) w zakresie powyższych zmiennych, a następnie porównano czasy przeżycia w grupach chorych fcc (+) i fcc (-).

- wszystkich pacjentów niezależnie od zastosowanego leczenia chirurgicznego
- pacjentów resekcyjnych
- pacjentów nieresekcyjnych
- pacjentów w stopniu zaawansowania T3/T4N+ niezależnie od zastosowanego leczenia chirurgicznego

W celu określenia zasadności resekcji żołądka w grupie fcc (+) porównano i wykonano analizę przeżycia w następujących podgrupach chorych.

- pacjenci resekcyjni z grupy fcc (+)
- pacjenci nieresekcyjni z grupy fcc (+) i fcc (-)

W dalszym etapie określono czynniki wpływające na wystąpienie pozytywnego wyniku badania popłuczyn na obecność wolnych komórek raka. W tym celu zastosowano analizę jedno i wieloczynnikową.

Wszystkie niezbędne informacje dla przeprowadzenia powyższych badań uzyskano z dokumentacji medycznej pacjentów, z Wielkopolskiego Rejestru Nowotworów oraz poprzez bezpośredni kontakt z chorymi lub ich rodzinami.

Na wykonanie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr 809/2015).

Pacjenci zostali poinformowani o możliwości rezygnacji z badania na każdym jego etapie bez podania przyczyny.

### **3.7 Analiza statystyczna**

Analizowane dane pochodziły z dwóch skal pomiarowych: interwałowej i nominalnej. Zgodność danych ze skali interwałowej sprawdzano za pomocą testu Shapiro–Wilka. W przypadku, gdy dane interwałowe wykazały brak zgodności z rozkładem normalnym obliczenia wykonano przy pomocy testów nieparametrycznych. Do porównania dwóch grup stosowano test t-Studenta lub alternatywnie test Manna-Whitney’a. Dane ze skali nominalnej analizowano testem niezależności chi-kwadrat.

W obrębie analizowanych grup przeprowadzono analizę przeżycia wykorzystując test Log-rank. Uzyskane wyniki przedstawiono przy pomocy krzywych Kaplana–Meiera.

Do oceny prognostycznej poszczególnych czynników określających występowanie u pacjenta fcc (+) zastosowano model regresji logistycznej. Uzyskane wyniki przedstawiano, jako ilorazy szans wraz z 95% przedziałem ufności.

W celu oceny wartości prognostycznej poszczególnych czynników interwałowych wskazujących na przynależność pacjenta do grupy fcc (+) zastosowano krzywe ROC (Receiver Operating Characteristics Curves). Oceny istotności danego parametru dokonano przy pomocy pola pod krzywą (AUC). Ponadto wyznaczono optymalny punkt odcięcia kierując się najwyższą wartością czułości i swoistości.

Wszystkie testy były analizowane na poziomie istotności  $\alpha=0,05$ . Obliczenia wykonano przy pomocy pakietu statystycznego Statistica 10 firmy StatSoft, oraz MedCalc version 10.3.2 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

## 4. WYNIKI

### 4.1 Analiza danych klinicznych i histopatologicznych grupy badanej

Do badania na potrzeby niniejszej pracy włączono 100 chorych z rakiem żołądka zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego. W badanej grupie było 37 kobiet i 63 mężczyzn w wieku od 26 do 81 lat (mediana – 65 lat). W trakcie laparotomii dokonano ostatecznie śródoperacyjnej oceny stopnia zaawansowania choroby nowotworowej i na tej podstawie oraz po uwzględnieniu wyników wykonanych wcześniej badań obrazowych 77 (77%) pacjentów miało wykonaną resekcję żołądka z limfadenektomią D2. Natomiast w 23 (23%) przypadkach z powodu rozsiewu narządowego/otrzewnowego lub miejscowo zaawansowanej choroby nowotworowej odstąpiono od resekcji. Decyzją konsylium wielodyscyplinarnego 36 pacjentów z całej grupy (36%) zostało zakwalifikowanych do leczenia chemioterapią okołoperacyjną, natomiast w 22 (22%) przypadkach pacjenci otrzymali chemioradioterapię uzupełniającą. W grupie pacjentów nieresekcyjnych do leczenia chemioterapią paliatywną zakwalifikowano 18 chorych.

W drugiej części analizy badanej grupy uwzględniono wyniki badań histopatologicznych. Duży odsetek chorych miał III i IV stopień zaawansowania choroby nowotworowej (wg 7 edycji TNM z 2010r) – odpowiednio 38 i 21 chorych (59%). U 65 chorych guz zlokalizowany był w części dystalnej żołądka (trzon i/lub część przedodźwiernikowa) u 21 zajmował część proksymalną (wpust i/lub dno żołądka), cały żołądek był zajęty u 14 chorych. W większości przypadków dominował wysoki stopień złośliwości histopatologicznej (G3) – 63 pacjentów. U 44 chorych stwierdzono typ rozlany, a u 43 typ jelitowy raka wg klasyfikacji Laurena. U 77 pacjentów, u których wykonano zabieg resekcyjny oceniono od 4 do 42 węzłów chłonnych (mediana - 19), przerzuty do węzłów chłonnych stwierdzono u 44 chorych (mediana – 6 węzłów zajętych)

Pełne zestawienie danych klinicznych i patologicznych w analizowanej grupie chorych przedstawia tabela nr 6.

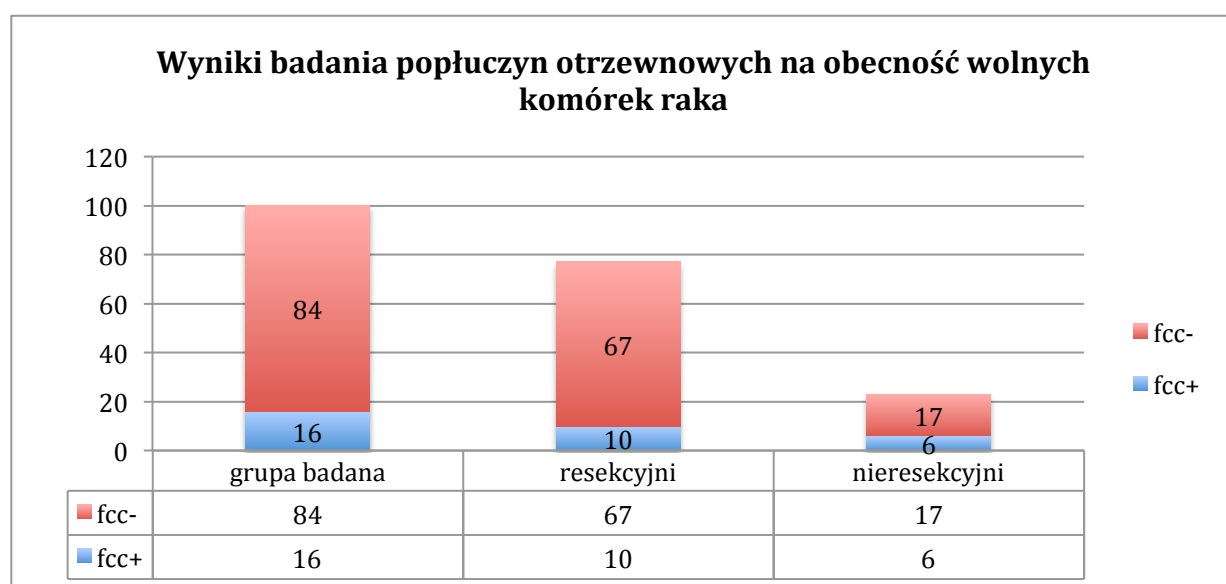
Tabela 6. Wyniki analizy danych klinicznych i histopatologicznych grupy badanej

Liczba pacjentów	100					
Wiek chorych	Średnia 63,8 lat; mediana - 65 lat (26 - 81)					
Płeć	Kobiety - 37 (37%)		Mężczyźni - 63 (63%)			
Rodzaj zabiegu operacyjnego						
Resekcyjny	Gastrektomia całkowita D2		69 pacjentów (69%)			
	Gastrektomia całkowita D2 rozszerzona		4 pacjentów (4%)			
	Resekcja subtotalna		4 pacjentów (4%)			
Nieresekcyjny	Laparotomia/zespolenie omijające		23 pacjentów (23%)			
Radykalność resekcji						
	Resekcje R0		68 pacjentów (68%)			
	Resekcje R1		8 pacjentów (8%)			
	Resekcje R2		1pacjent (1%)			
Lokalizacja raka w żołądku						
	Część proksymalna (wpust i/lub dno żołądka)		22 pacjentów (22%)			
	Część dystalna (trzon i/lub część przedodźwiernikowa)		64 pacjentów (64%)			
	Cały żołądek		14 pacjentów (14%)			
Stopień złośliwości histologicznej						
	G1		5 pacjentów(5%)			
	G2		32 pacjentów (32%)			
	G3		63 pacjentów (63%)			
Typ wg Laurena						
	jelitowy		43 pacjentów (43%)			
	rozlany		44 pacjentów (44%)			
	mieszany		13 pacjentów (13%)			
Stopień zaawansowania (TNM)*						
	I		15 pacjentów (15%)			
	IIA		16 pacjentów (16%)			
	IIB		10 pacjentów (10%)			
	IIIA		14 pacjentów (14%)			
	IIIB		18 pacjentów (18%)			
	IIIC		6 pacjentów (6%)			
	IV		21 pacjentów (21%)			
	Cecha T					
		T1		10 pacjentów (10%)		
		T2		13 pacjentów (13%)		
		T3		43 pacjentów (43%)		
T4a		26 pacjentów (26%)				
T4b		8 Pacjentów (8%)				
Cecha N						
	N+		66 pacjentów (66%)			
	N-		34 pacjentów (34%)			
Rozsiew otrzewnowy/narządowy widoczny makroskopowo	M1		21 pacjentów (21%)			
Leczenie około/pooperacyjne	Chemioterapia okołooperacyjna		36 pacjentów (36%)			
	Chemioradioterapia pooperacyjna		22 pacjentów (22%)			
	Chemioterapia paliatywna		18 pacjentów (18%)			
Markery nowotworowe		średnia	mediana	min:max	odch.std	
	CEA (ng/ml)	4,84	1,78	0,2:163,1	16,5657	
	Ca19-9 (ng/ml)	81,6	11,78	0,9:3425,0	378,35	
	Ca72.4 (U/ml)	35,77	3,77	0,73:1794,0	187,55	

\* - ocena stopnia zaawansowania w oparciu o pTNM i sTNM, nie uwzględnia wyniku badania popłuczyn otrzewnowych

## 4.2 Wyniki badania popłuczyn otrzewnowych

Dodatni wynik badania płynu na obecność wolnych komórek raka (fcc+) w całej grupie badanej uzyskano u 16 pacjentów (16%). Natomiast w grupie chorych poddanych resekcji żołądka fcc (+) stwierdzono u 10 z 77 (13%) pacjentów. U 23 chorych w czasie laparotomii stwierdzono rozsiew otrzewnowy choroby nowotworowej lub miejscowe zaawansowanie uniemożliwiające wykonanie resekcji żołądka. W tej grupie pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych uzyskano u 6 pacjentów (26%) (rycina 10).



Rycina 10. Wyniki badania popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka.

Ocenę popłuczyn otrzewnowych wykonano wykorzystując metodę cytologiczną u wszystkich 100 chorych, natomiast badanie immunohistochemiczne przeprowadzono u 46 chorych. U pozostałych 54 chorych nie udało się uzyskać w czasie opracowywania popłuczyn odpowiedniej ilości materiału do przeprowadzenia dodatkowo badania immunohistochemicznego. W grupie 14 chorych z pozytywnym wynikiem cytologii otrzewnowej badanie immunohistochemiczne udało się wykonać u 6 chorych i u wszystkich potwierdzono tą metodą pozytywny wynik badania.

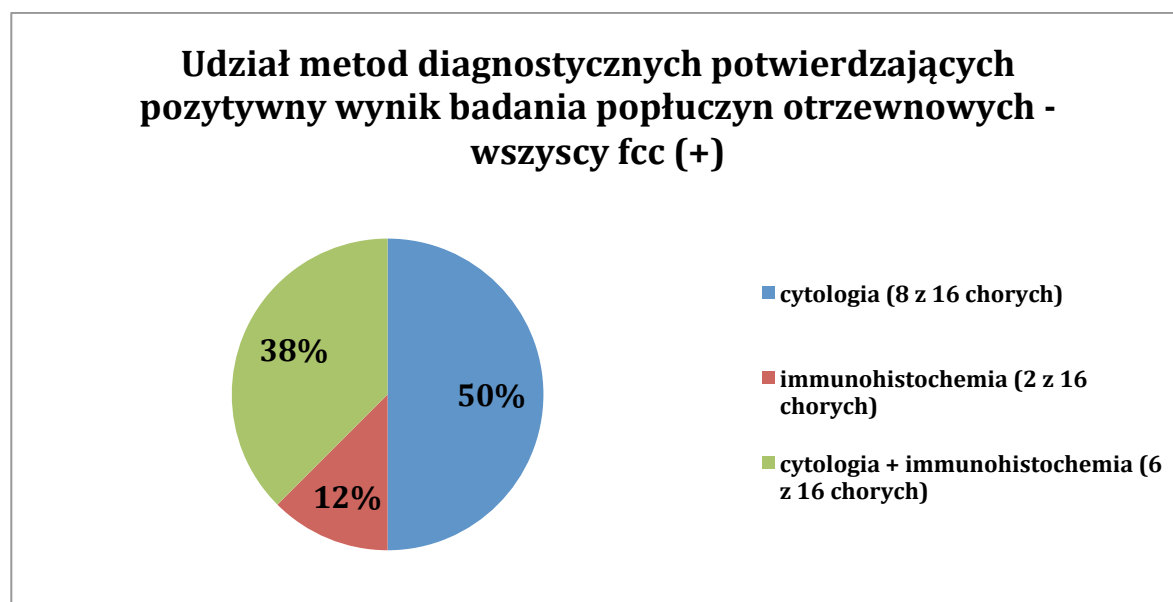
Z kolei w 2 przypadkach miała miejsce sytuacja, że wynik cytologii otrzewnowej był ujemny, a wynik badania immunohistochemicznego potwierdzał obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych.

Uzyskane wyniki badania popłuczyn otrzewnowych w zależności od zastosowanej metody diagnostycznej prezentuje tabela nr 7.

*Tabela 7. Wyniki badania popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka dla poszczególnych metod diagnostycznych*

Metoda diagnostyczna	Liczba chorych	fcc (-)	fcc (+)	%
cytologia	100	86/100	14/100	14%
immunohistochemia	46	34/46	8/46	17%
<b>cytologia i/lub immunohistochemia</b>	<b>100</b>	<b>84/100</b>	<b>16/100</b>	<b>16%</b>

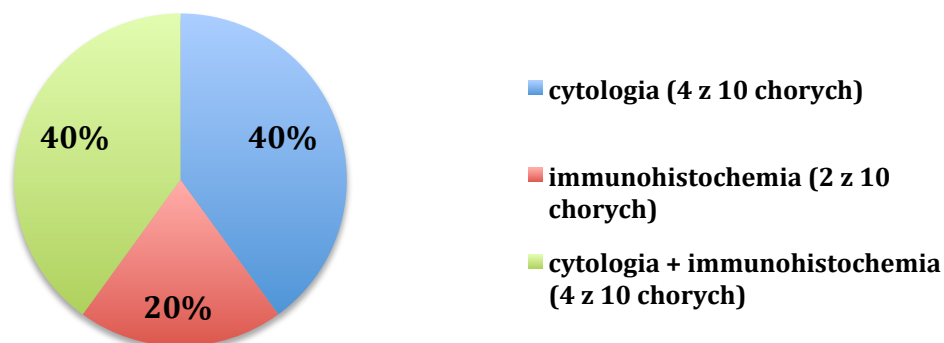
Udział poszczególnych metod diagnostycznych w diagnostyce pozytywnego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych dla wszystkich chorych fcc (+), chorych resekcyjnych fcc (+) i chorych nieresekcyjnych fcc (+) prezentują ryciny nr 11,12,13.



*Rycina 11. Udział metod diagnostycznych potwierdzających pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych - wszyscy fcc (+).*

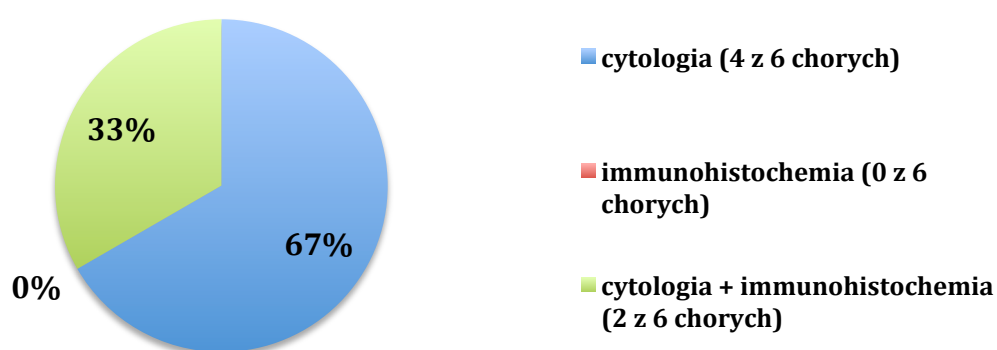


**Udział metod diagnostycznych potwierdzających  
pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych -  
pacjenci resekcyjni fcc (+)**



Rycina 12. Udział metod diagnostycznych potwierdzających pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych - pacjenci resekcyjni fcc (+).

**Udział metod diagnostycznych potwierdzających  
pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych -  
pacjenci nieresekcyjni fcc (+)**



Rycina 13. Udział metod diagnostycznych potwierdzających pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych - pacjenci nieresekcyjni fcc (+).

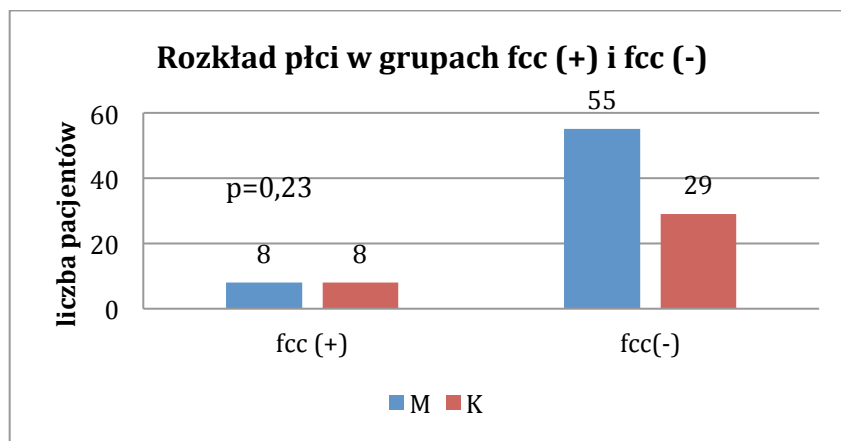
### 4.3 Porównanie grup pacjentów z pozytywnym fcc (+) i negatywnym fcc (-) wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych

#### 4.3.1 Parametry kliniczne i wyniki badań biochemicznych przedoperacyjnych

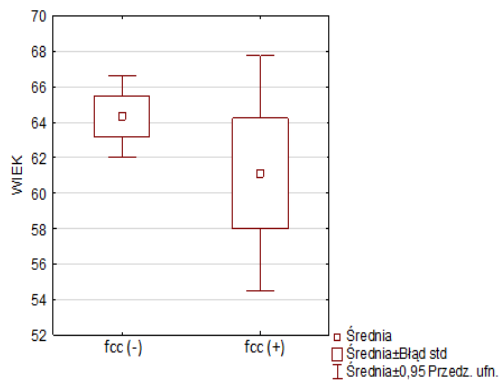
Porównując pacjentów w pierwszej kolejności dokonano analizy parametrów klinicznych – wiek, płeć oraz wyników badań biochemicznych przedoperacyjnych – poziomu HGB i markerów nowotworowych oznaczanych w surowicy. W tym celu dla analizy porównawczej dla parametru HGB wykorzystano test t – studenta, dla parametru płeć test chi-kwadrat Pearsona, natomiast pozostałe czynniki ze względu na brak rozkładu normalnego zostały porównane testem nieparametrycznym Manna – Whitney’a.

Porównywane grupy chorych fcc (+) i fcc (-) nie różniły się istotnie wiekiem ( $p=0,47$ ), rozkładem płci chorych ( $p=0,23$ ) oraz wartością HGB ( $p=0,16$ ).

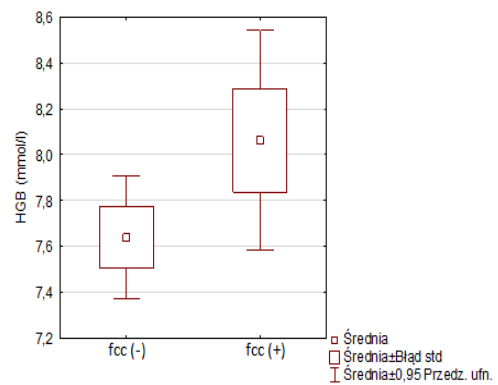
W grupie pacjentów fcc (+) stwierdzono wyższy poziom markerów nowotworowych niż w grupie fcc (-), różnice te jednak nie były istotne statystycznie. Szczegółowe wyniki zaprezentowano na rycinach 14,15,16,17,18,19.



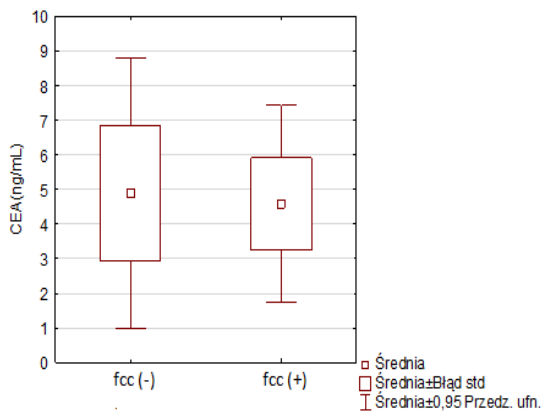
Rycina 14. Rozkład płci w grupach fcc (+) i fcc (-).



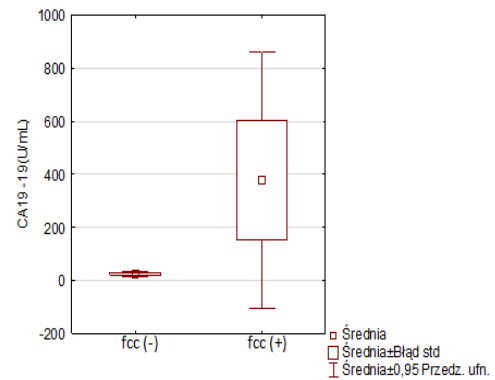
Rycina 15. Wiek chorych w grupach fcc (-) i fcc (+)  $p=0,47$ .



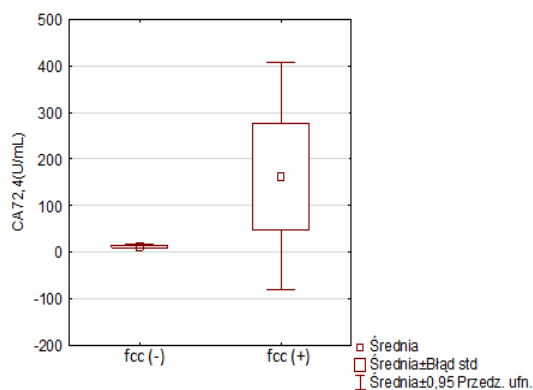
Rycina 16. Poziom HGB w grupach chorych fcc (-) i fcc (+) przed zabiegiem operacyjnym  $p=0,16$ .



Rycina 17. Wartość CEA w grupach chorych fcc (-) i fcc (+) przed zabiegiem operacyjnym  $p=0,32$ .



Rycina 18. Wartość Ca 19-9 w grupach chorych fcc (-) i fcc (+) przed zabiegiem operacyjnym  $p=0,09$ .



Rycina 19. Wartość Ca 72.4 w grupach chorych fcc (-) i fcc (+) przed zabiegiem operacyjnym  $p=0,06$ .

### 4.3.2 Leczenie okołoperacyjne i uzupełniające

Obie grupy nie różniły się istotnie w odsetku chorych kwalifikowanych przez zespół interdyscyplinarny do chemioterapii okołoperacyjnej ( $p=0,06$ ). Odsetek chorych leczonych w ten sposób w grupie fcc (+) wyniósł – 56,25%, natomiast w grupie fcc (-) - 32,14%. Radiochemioterapię w uzupełnieniu leczenia operacyjnego zastosowano u 21,43% pacjentów z grupy fcc (-) i 12,5% chorych z grupy fcc (+). Różnica pomiędzy grupami nie była istotna statystycznie ( $p=0,41$ ). Podobnie w przypadku leczenia paliatywnego chorych nieresekcyjnych nie stwierdzono istotnej różnicy między analizowanymi grupami ( $p=0,13$ ) (tabela nr 8).

Tabela 8. Leczenie okołoperacyjne i pooperacyjne w grupach fcc (+) i fcc (-)

	<b>fcc (+)</b>	<b>fcc (-)</b>	<b>p</b>
chemioterapia okołoperacyjna	9/16 (56,25%)	27/84 (32,14%)	0,06559
chemioradioterapia	2/16 (12,5%)	18/84 (21,43%)	0,41318
chemioterapia paliatywna	5/16 (31,25%)	13/84 (15,48%)	0,13227

### 4.3.3 Wyniki badań histopatologicznych preparatów pooperacyjnych

W dalszej kolejności porównano obie grupy chorych uwzględniając dane uzyskane z wyniku badania histopatologicznego preparatu pooperacyjnego: lokalizację nowotworu, typ histologiczny wg Laurena, typ złośliwości histologicznej (G), zaawansowanie guza nowotworowego (cecha T), stan układu chłonnego (cecha N), oraz stopień klinicznego zaawansowania wg TNM. W związku z tym, że analiza dotyczyła parametrów w skali nominalnej wykorzystano test statystyczny chi-kwadrat Pearsona.

#### 4.3.3.1 Lokalizacja nowotworu

W grupie pacjentów z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka proces nowotworowy zdecydowanie częściej zajmował cały żołądek (56,25%) niż w grupie chorych, gdy wynik badania płynu był

negatywny (5,95%). Różnica ta była istotna statystycznie ( $p=0,00001$ ). Z kolei przy ujemnym wyniku badania płynu rak zlokalizowany był głównie w dystalnej części żołądka (72,6%) ( $p<0,001$ ). W przypadku lokalizacji obejmującej część proksymalną żołądka nie zaobserwowano istotnej różnicy między analizowanymi grupami ( $p=0,76$ ) (tabela nr 9).

Tabela 9. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od lokalizacji raka w żołądku

Lokalizacja	fcc (+)	fcc (-)	p
część proksymalna żołądka (wpust/dno żołądka)	3/16 (18,75%)	18/84 (21,4%)	0,75796
część dystalna żołądka (tron/część przedodźwiernikowa)	4/16 (25%)	61/84 (72,6%)	<b>0,00018</b>
cały żołądek	9/16 (56,25%)	5/84 (5,95%)	<b>0,00001</b>

### 3.3.3.2 Typ histologiczny wg Laurena

U zdecydowanej większości pacjentów z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych (81,25%) rozpoznano typ rozlany wg klasyfikacji Laurena. W przypadku, gdy wynik badania był ujemny znacznie częściej występował typ jelitowy wg Laurena (48,81%). Różnicę dla typów histopatologicznych w porównywanych podgrupach chorych są statystycznie istotne. Nie zaobserwowano istotnej statystycznie różnicy ( $p=0,43$ ) między grupami dla postaci mieszanej wg Laurena (tabela nr 10).

Tabela 10. Zależność wyników badania popłuczyn otrzewnowych od typu histologicznego wg Laurena

Typ wg Laurena	fcc (+)	fcc (-)	p
jelitowy	2/16 (12,5%)	41/84 (48,81%)	<b>0,00717</b>
rozlany	13/16 (81,25%)	31/84 (36,9%)	<b>0,00147</b>
mieszany	1/16 (6,25%)	12/84 (14,29%)	0,43997

#### 4.3.3.3 Stopień złośliwości histologicznej G

Przedstawione w tabeli nr 11 wyniki wskazują, iż w grupie pacjentów fcc (+) dominował stopień złośliwości histologicznej G3 (87,5%). Różnica dla tego parametru pomiędzy analizowanymi grupami była istotna statystycznie ( $p=0,026$ ). Dla G1 i G2 pomiędzy badanymi grupami nie osiągnięto istotności statystycznej. U żadnego pacjenta z grupy fcc (+) nie odnotowano nowotworu w stopniu G1.

Tabela 11. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od stopnia złośliwości histologicznej (G)

Stopień złośliwości hist. (G)	fcc (+)	fcc (-)	p
G1	0/16 (0%)	5/84 (5,95%)	0,31670
G2	2/16 (12,5%)	30/84 (35,71%)	0,06809
G3	14/16 (87,5%)	49/84 (58,33%)	<b>0,02678</b>

#### 4.3.3.4 Stopień zaawansowania wg TNM

Zgodnie z VII edycją klasyfikacji TNM pacjenci z dodatnim wynikiem popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka sklasyfikowani są w IV stopniu zaawansowania choroby nowotworowej. Na potrzeby tej pracy stopień zaawansowania choroby określono poprzez pTNM (dla pacjentów resekcyjnych) i sTNM (dla nieresekcyjnych), nie uwzględniając wyników badania popłuczyn. Postępowanie miało na celu wykazanie wzajemnej relacji wyniku badania popłuczyn otrzewnowych do stopnia zaawansowania choroby, który zostałby określony dla raka żołądka, gdy nie wykonalibyśmy badania popłuczyn.

Tabela 12. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od stopnia zaawansowania TNM

Stopień zaawansowania*	fcc (+)	fcc (-)	p
I	0/16 (0%)	15/84 (17,85%)	0,0668
IIA	0/16 (0%)	16/84 (19,25%)	0,0617
IIB	3/16 (18,75%)	7/84 (8,3%)	0,2010
IIIA	2/16 (12,5%)	12/84 (14,2%)	0,8572
IIIB	4/16 (25%)	14/84 (16,6%)	0,4222
IIIC	2/16 (12,5%)	4/84 (4,76%)	0,2321
IV	5/16 (31,25%)	16/84 (19,04%)	0,2717

\* - stopień zaawansowania oparty na pTNM i sTNM, nie uwzględnia wyniku badania popłuczyn.

W stopniu zaawansowania I i IIA nie zaobserwowano pozytywnego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych. Nie stwierdzono istotnie statystycznych różnic pomiędzy analizowanymi grupami w wystąpieniu pozytywnego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych, w poszczególnych stopniach zaawansowania choroby nowotworowej wg klasyfikacji TNM (tabela nr 12).

#### 4.3.3.5 Stopień zaawansowania (T)

Wszyscy pacjenci z dodatnim wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych mieli stopień inwazji T3/T4. Na uwagę zasługuje fakt, iż w grupie pacjentów z ujemnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych stopień inwazji T3/T4 stwierdzono u 61 z 84 pacjentów (72,6%) Analiza porównawcza grup fcc (+) i fcc (-) nie wykazała istotności statystycznej w zależności od stopnia inwazji (tabela nr 13).

Tabela 13. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od stopnia inwazji (T)

Stopień zaawansowania T	fcc (+)	fcc (-)	p
T1	0/16 (0%)	10/84 (11,9%)	0,14573
T2	0/16 (0%)	13/84 (15,48%)	0,09159
T3	7/16 (43,75%)	36/84 (42,86%)	0,94729
T4a	3/16 (18,73%)	17/84 (20,2%)	0,81234
T4b	6/16 (37,5%)	8/84 (9,52%)	0,10245

#### 4.3.3.6 Stan układu chłonnego

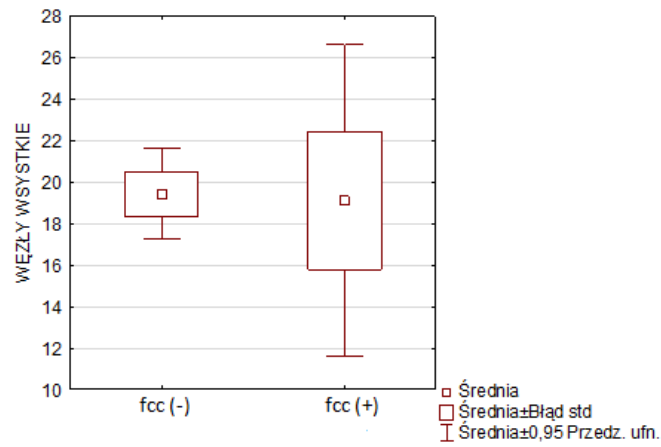
U wszystkich pacjentów, u których stwierdzono obecność komórek nowotworowych w popłuczynach otrzewnowych wystąpiły przerzuty w węzłach chłonnych (N+), natomiast w grupie pacjentów z ujemnym wynikiem badania popłuczyn, odsetek ten wyniósł 59,52%. Różnica dla porównywanych grup była istotna statystycznie ( $p=0,00173$ ) (tabela nr 14).

Tabela 14. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od stanu układu chłonnego (N)

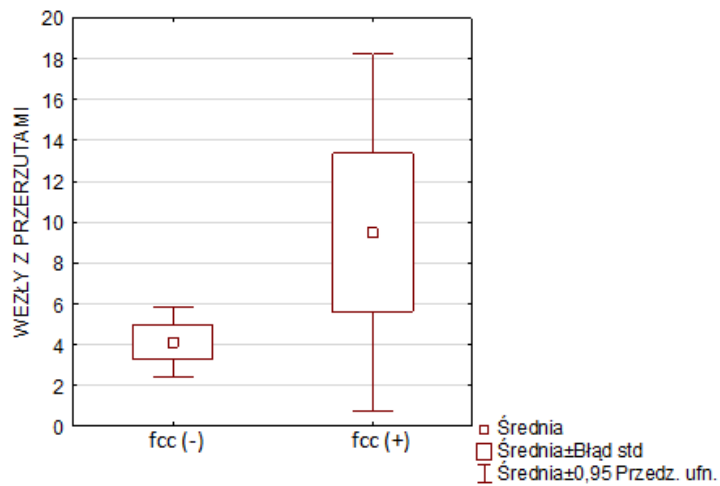
Stan układu chłonnego	fcc (+)	fcc (-)	p
N+	16 /16 (100%)	50/84 (59,52%)	<b>0,00173</b>
N-	0/16 (0%)	34/84 (40,48%)	

U 77 chorych wykonano zabieg resekcyjny z limfadenektomią D2. Grupy nie różniły się istotnie liczbą usuwanych węzłów chłonnych ( $p=0,73$ ) (rycina nr 20). Natomiast stwierdzono, że w grupie pacjentów z fcc (+) odsetek węzłów chłonnych zajętych przez proces nowotworowy był wyższy (średnia 9,5) niż w grupie fcc (-) (średnia 4,13) ( $p=0,014$ ) (rycina nr 21).





Rycina 20. Średnia liczba usuwanych węzłów chłonnych u pacjentów poddanych resekcji raka żołądka w grupach chorych fcc (+) i fcc (-) ( $p=0,73$ ).



Rycina 21. Średnia liczba zajętych węzłów chłonnych u pacjentów poddanych resekcji raka żołądka w grupach fcc (+) i fcc (-) ( $p=0,014$ ).

#### 4.3.3.7 Resekcyjność raka żołądka

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w resekcyjności raka żołądka między grupami z pozytywnym i negatywnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych ( $p=0,13$ ).

W grupie pacjentów z pozytywnym wynikiem fcc zabieg resekcyjny wykonano u 62,5% chorych. W tym resekcję R0 wykonano u 8, a resekcję R1 u 2 chorych. Jeśli wynik badania popłuczyn był ujemny odsetek ten wyniósł 79,7% - resekcję R0 wykonano u 60 chorych, R1 u 6 i R2 u 1 chorego. Radykalność resekcji (R) także nie była czynnikiem różnicującym badane grupy chorych ( $p=0,34$ ) (tabela nr 15).

Tabela 15. Wyniki badania popłuczyn otrzewnowych w zależności od radykalności resekcji (R)

	<b>fcc (+)</b>	<b>fcc (-)</b>	<b>p</b>
R0	8 (50%)	60 (71,43%)	0,09217
R1	2 (12,50%)	6 (7,14%)	0,4619
R2	0 (0%)	1 (1,19%)	-
nieresekcyjny	6 (37,50%)	17 (20,24%)	0,13264

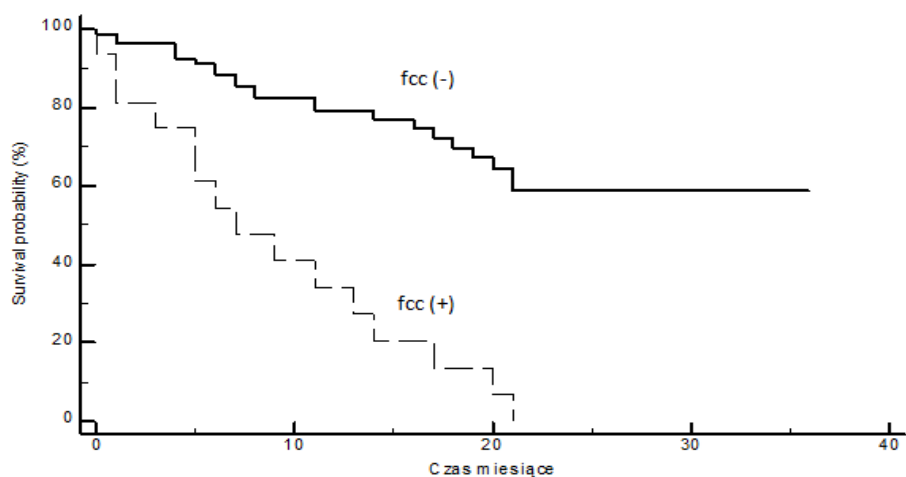
#### 4.4 Analiza przeżycia

W pierwszej kolejności porównano przeżycia 2 - letnie wszystkich pacjentów z pozytywnym (16 chorych) i wszystkich pacjentów z ujemnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych (84 chorych). Na uwagę zasługuje fakt, iż wszyscy pacjenci ze stwierdzonymi w badaniu komórkami raka w popłuczynach otrzewnowych zmarli w okresie do 21 miesięcy po operacji. W związku z tym w analizowanych grupach chorych na potrzeby naszej pracy porównano przeżycia w odstępach trzymiesięcznych od daty operacji (tabela nr 16).

Tabela 16. Przeżycia w grupach chorych fcc (+) i fcc (-)

Czas przeżycia (miesiące)	fcc (-) przeżycia (%)	fcc (+) przeżycia (%)
3	96%	75%
6	88%	54%
9	82%	41%
12	79%	34%
15	77%	20%
18	70%	14%
21	59%	0%
24	59%	0%

Średni czas przeżycia w grupie fcc (+) wyniósł 9 miesięcy, maksymalnie chory przeżył 21 miesięcy. W grupie fcc (-) 59% chorych przeżyło okres 2 lat od zabiegu. Różnica w przeżyciach była istotna statystycznie ( $p < 0,0001$ ). Wykazano, iż obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym i wiąże się z 5-krotnie wyższym (iloraz szans – 5,16; przedział ufności – 1,9 – 14,1) ryzykiem zgonu chorych w pierwszych dwóch latach po operacji. Rycina nr 22 przedstawia krzywe przeżycia Kaplana – Meiera dla powyższej analizy.

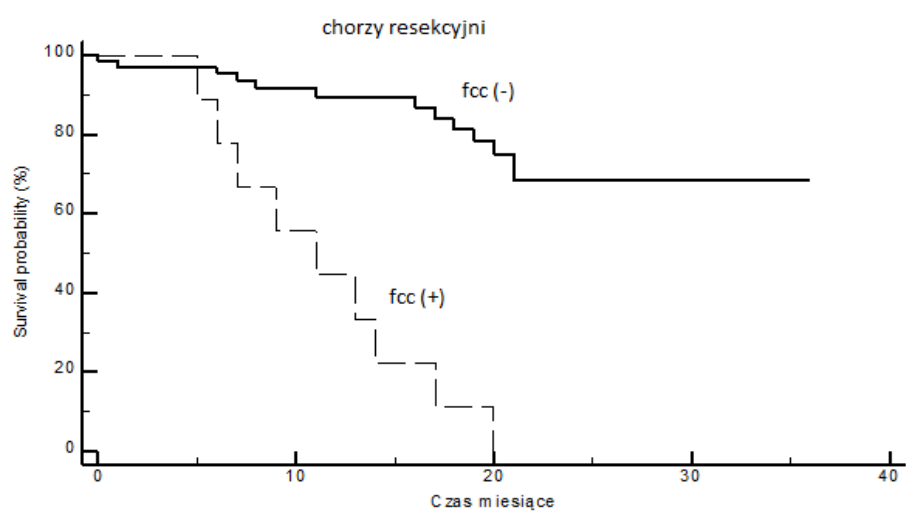


Rycina 22. Krzywa przeżycia Kaplana –Meiera dla grup fcc (+) i fcc (-) ( $p < 0.0001$ ).

W dalszym etapie analizy porównano ze sobą przeżycia chorych resekcyjnych z obu grup – 10 pacjentów z grupy fcc (+) i 67 pacjentów z grupy fcc (-). Analiza wykazała istotną statystycznie różnicę w przeżyciach dwuletnich na korzyść grupy fcc (-) ( $p < 0,0001$ ). Pacjenci, u których wykonano zabieg resekcyjny z grupy fcc (+) żyli średnio 11 miesięcy, a ryzyko zgonu w tej podgrupie było 8 krotnie większe niż w przypadku chorych resekcyjnych fcc (-) (iloraz szans – 7,8; przedział ufności 1,7-35,9). Szczegółowe wyniki prezentuje tabela nr 17. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera przedstawia rycina nr 23.

Tabela 17. Przeżycia chorych resekcyjnych w grupach fcc (+) i fcc (-)

Czas przeżycia (miesiące)	Resekcyjni fcc (-) przeżycia	Resekcyjni fcc (+) przeżycia
3	97%	100%
6	95%	78%
9	92%	56%
12	89%	44%
15	89%	22%
18	81%	11%
21	68%	0%
24	68%	0%

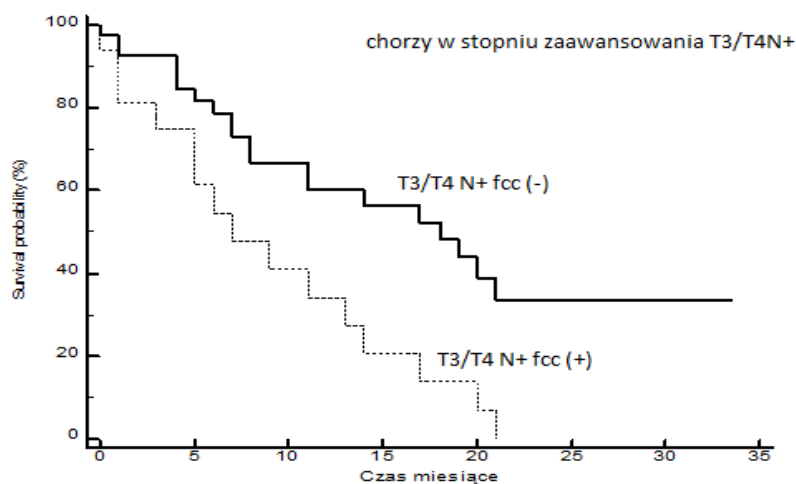


Rycina 23. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera dla pacjentów resekcyjnych ( $p < 0,0001$ ).

Następnie wyodrębniono z obu grup podgrupy chorych o podobnym stopniu zaawansowania choroby wg TNM. Wszyscy pacjenci z grupy fcc (+) (16 chorych) mieli stopień zaawansowania guza nowotworowego, co najmniej T3 i wszyscy mieli przerzuty w węzłach chłonnych. Z tego powodu możliwy do porównania był stopień zaawansowania T3/T4 N+. Taki stopień zaawansowania w grupie fcc (-) stwierdzono u 42 chorych. Także w tym przypadku różnica w przeżyciach była istotna statystycznie ( $p=0,003$ ). Obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych dla podgrupy T3/T4 fcc (+) wiązała się z 2,5 razy większym ryzykiem zgonu w okresie pierwszych 2 lat po operacji (iloraz szans – 2,5; przedział ufności 1,15 – 5,6). Uzyskane wyniki zawarte są w tabeli nr 18. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera prezentuje rycina nr 24.

*Tabela 18. Przeżycia chorych z grup fcc (+) i fcc (-) w stopniu zaawansowania choroby T3/T4N+*

<b>Czas przeżycia (miesiące)</b>	<b>T3/T4N+ fcc (-) przeżycia</b>	<b>T3/T4N+ fcc (+)</b>
3	93%	75%
6	79%	54%
9	67%	41%
12	60%	34%
15	56%	20%
18	48%	14%
21	33%	0%
24	33%	0%

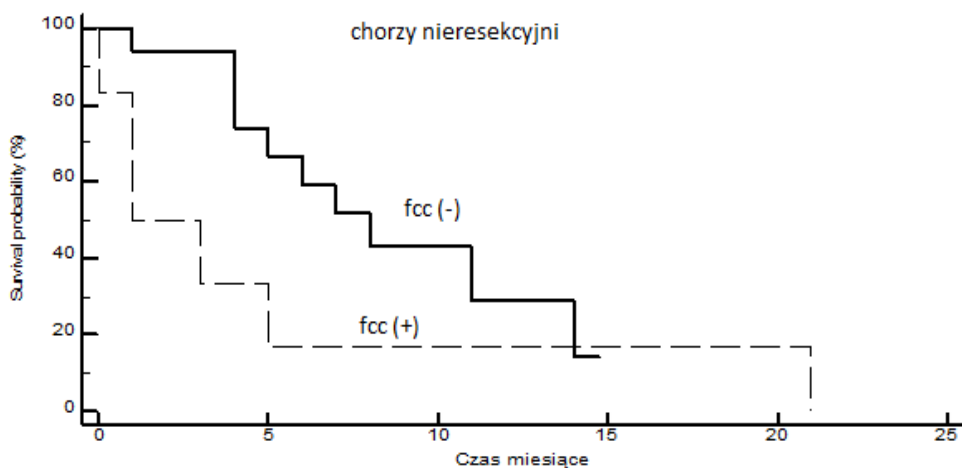


Rycina 24. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera dla podgrup chorych w stopniu zaawansowania T3/T4N+ ( $p=0,003$ ).

Przeanalizowano także przeżycia w obu grupach dla pacjentów, u których nie wykonano resekcji z powodu zaawansowania miejscowego choroby lub współistniejącego rozsiewu otrzewnowego. Takie zaawansowanie choroby stwierdzono u 6 chorych z grupy fcc (+) i 17 chorych z grupy fcc (-). Obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych w tych podgrupach nie miała istotnego wpływu na uzyskiwane przeżycia ( $p= 0,11$ ). Wynik prezentuje tabela nr 19, a rycina nr 25 krzywe przeżycia Kaplana – Meiera.

Tabela 19. Przeżycia chorych nieresekcyjnych z grup fcc (+) i fcc (-)

Czas przeżycia (miesiące)	Nieresekcyjni fcc (-) przeżycia (%)	Nieresekcyjni fcc (+) przeżycia (%)
3	94%	33%
6	59%	17%
9	43%	17%
12	29%	17%
15	14%	17%
18	14%	17%
21	0%	0%
24	0%	0%



Rycina 25. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera pacjentów nieresekcyjnych z grup fcc (+) i fcc (-) ( $p=0,11$ ).

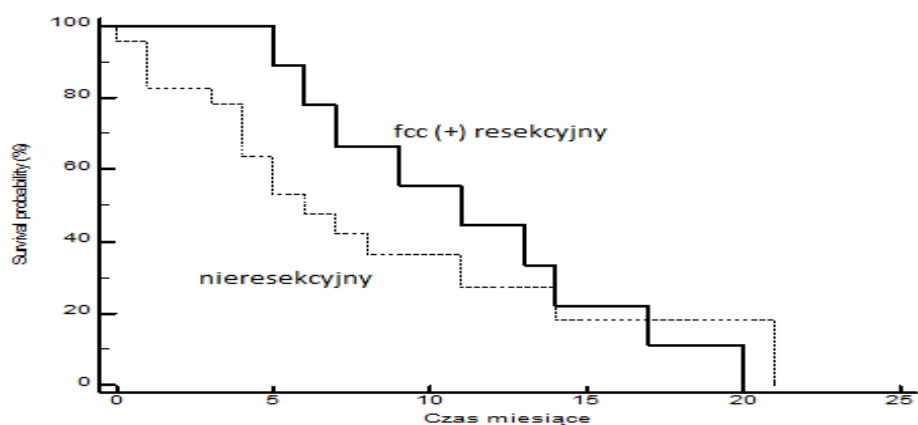
W celu oceny zasadności przeprowadzenia zabiegu resekcyjnego chorych z rakiem żołądka, u których stwierdza się obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych, dokonano analizy porównawczej przeżyć w grupach chorych: resekcyjnych fcc (+) (10 chorych) i nieresekcyjnych niezależnie od wyniku badania popłuczyn [fcc (+) lub fcc (-)] (23 chorych). Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, iż nie ma istotnej różnicy w przeżyciach ( $p=0,47$ ). Średni czas przeżycia w grupie pacjentów nieresekcyjnych wyniósł 9 miesięcy, natomiast resekcyjnych fcc (+) 11 miesięcy.

Wyniki prezentuje tabela nr 20. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera dla tych podgrup zawarte są na rycinie nr 26.



Tabela 20. Przeżycia chorych resekcyjnych fcc (+) i nieresekcyjnych fcc (+) i fcc (-)

Czas przeżycia (miesiące)	Resekcyjni fcc (+) przeżycia	Nieresekcyjni fcc (+) i fcc (-)
3	100%	78%
6	78%	48%
9	56%	36%
12	44%	27%
15	22%	18%
18	11%	17%
21	0%	0%
24	0%	0%



Rycina 26. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera dla resekcyjnych z grupy fcc (+) i nieresekcyjnych z grup fcc (+) i fcc (-) ( $p=0,47$ ).

#### 4.5 Identyfikacja czynników mogących mieć wpływ na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych

Do oceny prognostycznej poszczególnych czynników mogących mieć wpływ na wystąpienie u pacjenta dodatniego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka zastosowano model regresji logistycznej. Uzyskane wyniki prezentuje tabela nr 21.

Tabela 21. Regresja logistyczna parametrów mogących mieć wpływ na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych

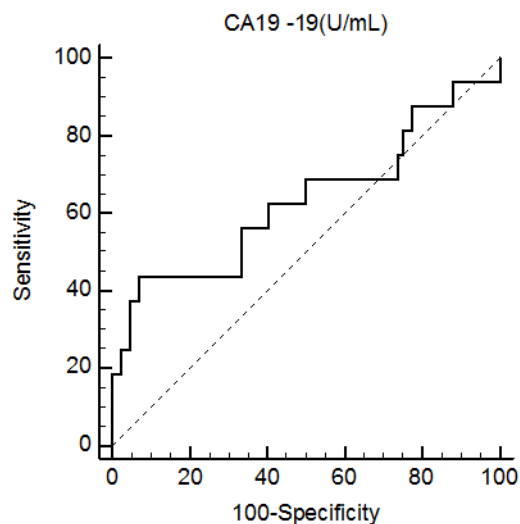
Parametr		Iloraz szans (HR)	Przedział ufności - 95%+95%	Standard błąd	P
Lokalizacja	Wpust	0,808	0,207 – 3,148	0,634	0,7583 (ns)
	<b>trzon i część przedodźwiernikowa</b>	<b>0,120</b>	<b>0,035-0,412</b>	<b>0,629</b>	<b>0,0008</b>
	<b>cały żołądek</b>	<b>19,800</b>	<b>5,188-75,568</b>	<b>0,683</b>	<b>0,0000</b>
Stopień zróżnicowania	G1	brak możliwości oceny – G1 nie wystąpił w grupie pacjentów fcc (+)			
	G2	0,257	0,055-1,208	0,789	0,0854 (ns)
	<b>G3</b>	<b>5,000</b>	<b>1,068-23,412</b>	<b>0,788</b>	<b>0,0410</b>
Typ wg Laurena	<b>jelitowy</b>	<b>0,150</b>	<b>0,032-0,700</b>	<b>0,787</b>	<b>0,0158</b>
	<b>rozlany</b>	<b>7,042</b>	<b>1,862-26,636</b>	<b>0,679</b>	<b>0,0040</b>
	mieszany	0,442	0,052-3,690	1,082	0,4511 (ns)
Cecha T3/T4		nie oceniono – wszyscy pacjenci fcc (+) mieli cechę T3/T4			
Cecha N+		nie oceniono – wszyscy pacjenci z grupy fcc (+) mieli cechę N (+)			
Rozsiew otrzewnowy widoczny makroskopowo		1,932	0,588 – 6,345	0,607	0,2778 (ns)

Wszyscy pacjenci z grupy fcc (+) mieli nowotwór w stopniu inwazji T3 lub T4 i wszyscy mieli przerzuty w węzłach chłonnych (N+), – dlatego też te parametry nie były poddawane dalszej analizie statystycznej.

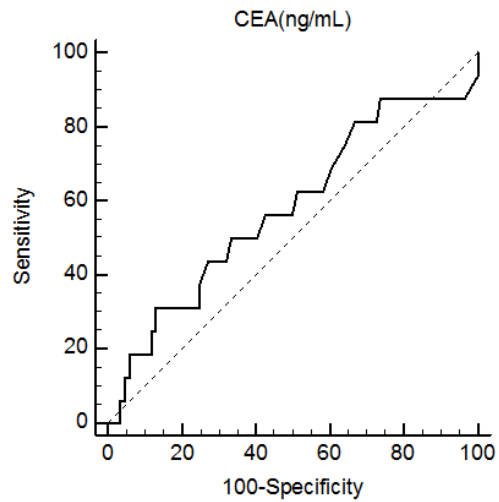
Z przeprowadzonej analizy regresji logistycznej pozostałych czynników jednowymiarowych wynika, że pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych

wystąpił istotnie częściej w przypadku, gdy rak żołądka był w stopniu zróżnicowania G3 ( $p=0,04$ ), stwierdzono typ histologiczny – rozlany wg Laurena ( $p=0,004$ ) i gdy proces nowotworowy obejmował cały żołądek ( $p<0,001$ ). Natomiast, jeśli rak zlokalizowany był w części dystalnej żołądka oraz stwierdzono typ jelitowy wg Laurena statystycznie rzadziej otrzymywano pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych. Paradoksalnie z przeprowadzonej analizy wynika, że obecność przerzutów w otrzewnej nie była istotnym czynnikiem wystąpienia pozytywnej cytologii otrzewnowej ( $p=0,27$ ).

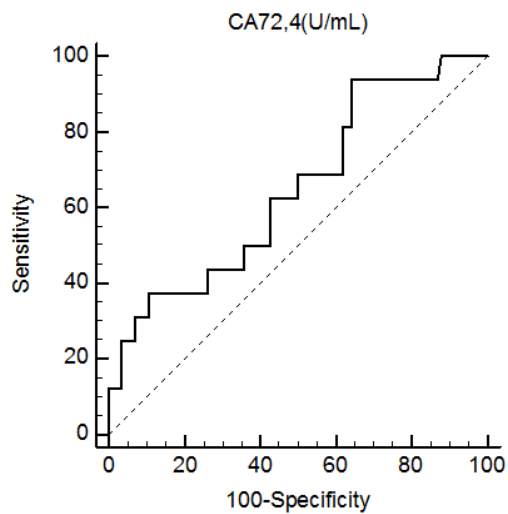
W celu oceny wartości prognostycznej wystąpienia pozytywnego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych dla markerów nowotworowych wykreślono krzywe ROC.



Rycina 27. Krzywa ROC dla Ca 19-9 ( $AUC = 0,631$ ;  $p = 0,15$ ).



Rycina 28. Krzywa ROC dla CEA ( $AUC=0,578$ ;  $p=0,35$ ).



Rycina 29. Krzywa ROC dla C72.4 ( $AUC=0,648$ ;  $p=0,053$ ).

Powyżej przedstawiona analiza krzywych ROC (ryciny nr 27,28,29) nie pozwoliła na wyznaczenie wartości diagnostycznych uzyskania pozytywnego wyniku badania

popłuczyn otrzewnowych dla markerów nowotworowych oznaczanych w surowicy krwi.

Następnie wszystkie zmienne istotne w analizie jednowymiarowej włączono do modelu wielowymiarowego i stwierdzono, iż najistotniejszymi parametrami wpływającymi na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych są - typ rozlany wg Laurena (iloraz szans - 7,48 przedział ufności: 1,6 - 35,3) oraz zajęcie całego żołądka przez proces nowotworowy (iloraz szans - 20,75; przedział ufności 4,6 : 93,9).

## **5. OMÓWIENIE WYNIKÓW**

Standardowa ocena stopnia zaawansowania u większości pacjentów leczonych z powodu raka żołądka w Polsce nie uwzględnia wyniku badania popłuczyn otrzewnowych przed podejmowaniem decyzji terapeutycznych. W związku z tym w niniejszej pracy spróbowano określić jak wynik badania popłuczyn otrzewnowych w polskiej populacji raka żołądka koreluje z uzyskiwanymi wynikami leczenia oraz czy istnieje potrzeba włączenia na stałe tej metody do algorytmu diagnostycznego raka żołądka w naszej praktyce.

### **5.1. Ocena stopnia zaawansowania choroby nowotworowej**

W zaawansowanym raku żołądka prawidłowo przeprowadzona ocena stopnia zaawansowania choroby w oparciu o obowiązującą klasyfikację TNM powinna uwzględniać badania endoskopowe, badania obrazowe oraz laparoskopię diagnostyczną połączoną z badaniem popłuczyn otrzewnowych. Tak przeprowadzona diagnostyka raka żołądka pozwala na podjęcie właściwych decyzji terapeutycznych. Jednakże algorytm diagnostyczny, który uwzględnia w ocenie przedoperacyjnej laparoskopię i ocenę popłuczyn otrzewnowych, poza Japonią, pojedynczymi ośrodkami Europy Zachodniej i USA, jest rzadko praktykowany. Dane z USA w oparciu o Surveillance, Epidemiology and End Results – Medicare (SEER-Medicare) pokazują, iż tylko 7,9% pacjentów leczonych operacyjnie z powodu raka żołądka ma wykonywaną laparoskopię diagnostyczną (95). Dane literaturowe, które oceniają wartość stosowania diagnostycznej laparoskopii pokazują, iż zastosowanie tej metody w diagnostyce przedoperacyjnej raka żołądka skutkowało dyskwalifikacją z leczenia operacyjnego z powodu zaawansowania choroby u 8,5% do 43,8% pacjentów. Z drugiej strony, rozwój technik obrazowania i coraz lepsza czułość metod TK, MR, PET w ocenie stopnia zaawansowania raka żołądka spowodowały, iż niektórzy autorzy kwestionują potrzebę wykonywania diagnostycznej laparoskopii w ocenie przedoperacyjnej (31).

Aktualny algorytm diagnostyczny National Comprehensive Cancer Network (NCCN) rekomenduje wykonywanie laparoskopii diagnostycznej z oceną popłuczyn

otrzewnowych u pacjentów w stopniu T1b i wyższym, którzy na podstawie wykonanych badań obrazowych są kandydatami do leczenia radykalnego (96). Według zaleceń European Society Of Medical Oncology (ESMO) laparoscopia diagnostyczna i ocena popłuczyn otrzewnowych powinna być wykonywana w każdym przypadku resekcyjnego raka żołądka (70). Polski Konsensus Raka Żołądka (aktualizacja – 2013r) zaleca wykonywanie diagnostycznej laparoskopii u pacjentów w klinicznym stopniu zaawansowania T3 i T4 z podejrzeniem współistniejącego rozsiewu otrzewnowego choroby. Natomiast płukanie otrzewnej w celu identyfikacji komórek raka nie jest rekomendowane, jako postępowanie obowiązkowe (63).

W naszej pracy nie stosowaliśmy diagnostycznej laparoskopii. Popłuczyny otrzewnowe pobierano w trakcie laparotomii i wtedy też ustalano ostateczny stopień zaawansowania choroby nowotworowej. Spośród 100 pacjentów zabieg resekcyjny w zamiarze radykalny (resekcje R0/R1) wykonano u 76 chorych. U 23 chorych w trakcie laparotomii stwierdzono rozsiew otrzewnowy/narządowy choroby lub miejscowe zaawansowanie choroby, które nie pozwoliło na wykonanie zabiegu resekcyjnego. Odsetek - 23% chorych, którzy byli niepotrzebnie zakwalifikowani do leczenia operacyjnego jest wysoki, podobny do danych przedstawionych w literaturze (97–102).

## **5.2. Metody diagnostyczne komórek raka w popłuczynach otrzewnowych**

Przedstawiane w piśmiennictwie wskaźniki detekcji komórek raka w popłuczynach otrzewnowych (4,4% – 83%) (39) różnią się między sobą w zależności od analizowanej grupy pacjentów (resekcja R0 vs rozsiew otrzewnowy) oraz stosowanych metod identyfikacji komórek.

W diagnostyce popłuczyn otrzewnowych na potrzeby naszej pracy wykorzystaliśmy dwie podstawowe metody diagnostyczne: cytologiczną i immunohistochemiczną. Oceny cytologiczną przeprowadzono u wszystkich chorych, natomiast badanie immunohistochemiczne udało się wykonać u 46 chorych - w tylu przypadkach była wystarczająca ilość osadu dla zastosowania metody immunohistochemicznej.

W grupie pacjentów, u których wykonano resekcję R0/R1, odsetek chorych z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn na obecność wolnych komórek raka wyniósł 13%.

W piśmiennictwie dotyczącym analizy popłuczyn otrzewnowych u chorych z rakiem żołądka większość autorów przedstawiających swoje dane stosowało tylko metodę cytologiczną. Odsetek chorych z pozytywnym wynikiem cytologii otrzewnowej u pacjentów po resekcji R0 jest zbliżony do wyników przedstawionych w naszej analizie: Bando i wsp. – 7,3% (30/411 chorych) (36), Kodera i wsp.– 11% (10/91 chorych) (103), Bonenkamp i wsp. – 4,4% (20/457 chorych) (38), Bentrem i wsp. – 6,5%. (24/371 chorych) (37). W 1998 r. Benevolo i wsp. opublikował pracę, w której poza klasycznym badaniem cytologicznym popłuczyn otrzewnowych, do identyfikacji komórek raka wykorzystał dodatkowo metodę immunohistochemiczną. Poprzez zastosowanie przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko antygenom na powierzchni komórek nowotworowych zaobserwował wzrost detekcji komórek raka o 14% w porównaniu do metody cytologicznej. W grupie pacjentów zidentyfikowanych wyłącznie przy użyciu metody immunohistochemicznej obserwował podobne wskaźniki nawrotów choroby i przeżyć odległych jak w grupie chorych z pozytywnym wynikiem badania cytologicznego (52). Podobnie wyższe wskaźniki detekcji uzyskano w innych badaniach wykorzystujących metody immunohistochemiczne - Rosenberg i wsp. - 21,4% (104), Nekarda i wsp. – 20% (105), Vogel i wsp. – 30% (106).

W naszym badaniu nie zaobserwowaliśmy tak ewidentnej korzyści z zastosowania metody immunohistochemicznej. W grupie pacjentów poddanych resekcji R0/R1 tylko u dwóch spośród 10 chorych metoda immunohistochemiczna, jako jedyna potwierdziła obecność wolnych komórek raka w popłuczynach. Ograniczenie wykorzystania w pełni metody immunohistochemicznej wynikało z braku wystarczającej ilości materiału komórkowego do przeprowadzenia badania u wszystkich pacjentów w dwóch metodach jednocześnie, stąd uzyskane przez nas wyniki przy zastosowaniu metody immunohistochemicznej należy traktować bardzo ostrożnie.

Obecność wolnych komórek raka w popłuczynach otrzewnowych jest stanem poprzedzającym wystąpienie rozsiewu otrzewnowego. Zastanawia, zatem fakt niskiego wskaźnika detekcji (23,8%), który uzyskaliśmy w grupie chorych ze współistniejącym makroskopowo widocznym rozsiewem otrzewnowym choroby. Dla porównania identyczny wynik w tym stadium choroby w swojej pracy przedstawił Bonenkamp i wsp. (38). Natomiast większość autorów badań prezentuje wyższe wskaźniki detekcji przy współistniejącym rozsiewie otrzewnowym (23% - 83%) (36,38,103,107,108). Tak



duże rozbieżności wynikają najprawdopodobniej z różnic w czułości stosowanych metod diagnostycznych oraz braku standaryzacji badania popłuczyn.

Ograniczenia metod diagnostycznych popłuczyn otrzewnowych wynikają z małej dokładności w przewidywaniu nawrotu otrzewnowego po zabiegu resekcyjnym. Analizując literaturę zauważa się duże rozbieżności w czułości i swoistości nie tylko pomiędzy zastosowanymi metodami, ale także w obrębie jednej metody. Najwyższą czułość badania cytologicznego uzyskał Kodera i wsp. W grupie 10 chorych, z pozytywnym wynikiem cytologii otrzewnowej, u 8 pacjentów stwierdzono nawrót choroby w postaci rozsiewu otrzewnowego, pozostałych 2 pacjentów zmarło z innych przyczyn (choroby układu krążenia i przerzuty do kości). W grupie 81 chorych z ujemnym wynikiem u 2 chorych stwierdzono rozsiew otrzewnowy choroby (czułość 80%, swoistość – 97,5%) (103). Podobnie wysoką czułość i swoistość cytologii w przewidywaniu nawrotu otrzewnowego przedstawiono w badaniu Li i wsp. (73,7% i 97,8%) (109). Należy jednak zauważyć, iż większość dostępnych publikacji prezentuje niższą czułość tej metody, czego wynikiem jest duży odsetek pacjentów fcc (-) z rozsiewem otrzewnowym choroby lub nawrotem choroby w otrzewnej po resekcji R0 (50), co częściowo potwierdzono także w naszej pracy. Przedstawione znaczne różnice w czułości tej metody wynikają najprawdopodobniej z trudności interpretacyjnych w różnicowaniu między dobrze zróżnicowanymi komórkami nowotworowymi a łagodnymi komórkami mesothelium oraz z różnic w metodologii badania cytologicznego pomiędzy ośrodkami wykonującymi ocenę popłuczyn otrzewnowych.

Aktualnie dominującą procedurą w ośrodkach azjatyckich (Japonia, Korea Południowa) wykonujących ocenę popłuczyn otrzewnowych stały się badania molekularne oparte na detekcji mRNA CEA. Obecność tego markera w popłuczynach otrzewnowych ma związek z głębokością inwazji guza nowotworowego, zajęciem węzłów chłonnych i stopniem zaawansowania choroby nowotworowej. Uzyskiwane wyniki badania popłuczyn świadczą o wyższej czułości metody molekularnej z użyciem CEA mRNA nad klasyczną cytologią popłuczyn otrzewnowych. Niemniej należy zwrócić uwagę, że w niektórych badaniach wskaźnik czułości (53,110) i swoistości (111) jest dla metody molekularnej niski. Fałszywie dodatnie wyniki mają związek z produkcją CEA przez inne komórki obecne w płynie otrzewnowym, natomiast fałszywie ujemne wyniki RT-PCR z wykorzystaniem mRNA CEA są skutkiem braku ekspresji markera CEA w komórkach

raka żołądka w popłuczynach otrzewnowych.

W piśmiennictwie są także dostępne publikacje, które porównują różne metody diagnostyczne w przewidywaniu nawrotu otrzewnowego po radykalnym leczeniu operacyjnym raka żołądka. Tokuda i wsp. w pracy z 2003 porównał konwencjonalną cytologię z metodą molekularną CEA mRNA. Uzyskał 31% czułość badania cytologicznego przy swoistości wynoszącej 100%, natomiast czułość i swoistość dla metody molekularnej wyniosły odpowiednio 93% i 87,5% (112). Podobne wyniki świadczące o przewadze czułości metody molekularnej nad badaniem cytologicznym popłuczyn otrzewnowych, uzyskali także inni autorzy publikujący zestawienia porównujące te metody diagnostyczne (53,111,113). Z kolei w publikacji Yonemury i wsp. autorzy wykazali wyższość klasycznej cytologii nad badaniem CEA RT-PCR w przewidywaniu nawrotu otrzewnowego. Czułość i swoistość badania cytologicznego wyniosły odpowiednio 46% i 94%, natomiast w analizie RT – PCR – 31% i 95%, co więcej wykazano, iż wynik badania cytologicznego jest najsilniejszym niezależnym czynnikiem ryzyka nawrotu choroby w otrzewnej. We wnioskach swojej pracy autorzy udowodnili, że jednoczesowe zastosowanie obu metod w badaniu popłuczyn otrzewnowych ma najwyższą czułość (57%) i jest ona wyższa o 11% w stosunku do konwencjonalnej cytologii (110).

### **5.3. Przeżycie chorych**

Własne wyniki, podobnie jak dane z literatury jednoznacznie pokazują różnicę w przeżyciach pacjentów, u których stwierdzono obecność wolnych komórek raka w otrzewnej w stosunku do grupy pacjentów z ujemnym wynikiem cytologii otrzewnowej. Wyniki te są gorsze zarówno wśród pacjentów, którzy poddani byli radykalnemu leczeniu operacyjnemu, jak i pacjentów, u których podczas laparotomii stwierdzono widoczne ogniska raka w otrzewnej. Podobnie jak wiele publikacji dotyczących badania popłuczyn otrzewnowych analiza przeżycia przedstawiona w tej pracy dotyczyła wszystkich chorych zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego oraz wyodrębnionej podgrupy chorych, którym wykonano zabieg resekcyjny potencjalnie radykalny. Odsetek rocznych i dwuletnich przeżyć wszystkich chorych zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn wyniósł

odpowiednio 34% i 0%, natomiast przy ujemnym wyniku - jeden rok przeżyło 79%, natomiast dwa lata - 59% pacjentów. W podgrupie chorych, którzy mieli wykonaną resekcję R0, przy pozytywnym wyniku wskaźniki te wyniosły 44% i 0%, a gdy wynik badania popłuczyn był ujemny - 89% i 68%. Osiągane różnice w przeżyciach były istotne statystycznie.

Bando i wsp. w swojej pracy analizował cytologię płynu z otrzewnej u 1297 pacjentów poddanych leczeniu operacyjnemu z powodu raka żołądka. Wynik badania cytologicznego popłuczyn otrzewnowych był pozytywny u 296 chorych (24%). W tej grupie 5 lat od operacji przeżyło tylko 2% pacjentów, natomiast przy ujemnym wyniku wskaźnik ten wyniósł 58% ( $p < 0.001$ ). Wśród chorych z pozytywnym wynikiem cytologii otrzewnowej byli pacjenci operowani radykalnie i pacjenci, u których zabieg zakończono na laparotomii zwiadowczej z powodu rozsiewu choroby. W grupie chorych poddanych resekcji roczne i trzyletnie przeżycia wyniosły odpowiednio 37% i 0%, natomiast w przypadku, gdy towarzyszył rozsiew otrzewnowy przeżycia roczne i trzyletnie wyniosły 18% i 2%. Natomiast pacjenci, u których stwierdzono rozsiew otrzewnowy choroby i wynik cytologii popłuczyn był ujemny przeżycia roczne i trzyletnie wyniosły dla porównania 43% i 9% ( $p < 0.001$ ) (36). Podobnie niekorzystny wpływ pozytywnego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych na przeżycia przy współistniejącym rozsiewie choroby zaobserwował Fukugawa i wsp. (35). Przeprowadzona w naszej pracy analiza podgrupy chorych, u których śródoperacyjnie stwierdzono rozsiew otrzewnowy lub zaawansowanie choroby niepozwalające na wykonanie radykalnej resekcji nie wykazała takiej zależności. Uzyskane wskaźniki przeżycia rocznego i dwuletniego nie różniły się istotnie statystycznie i wyniosły - dla chorych fcc (+) 17% i 0% oraz 29% i 0% dla chorych fcc (-).

W 1996 roku opublikowano randomizowane badanie Dutch Gastric Cancer Trial porównujące limfadenektomię D1 i D2 u pacjentów z rakiem żołądka. Autorzy opcjonalnie do głównego celu badania przeprowadzili analizę popłuczyn otrzewnowych u 535 pacjentów leczonych operacyjnie z powodu raka żołądka. Pozytywny wynik badania płynu uzyskano u 4,4% chorych leczonych radykalnie (R0), natomiast, gdy stwierdzono rozsiew otrzewnowy i wykonano jedynie zabieg paliatywny wskaźnik ten wyniósł 23%. Średni czas przeżycia pacjentów z dodatnią cytologią otrzewnową wyniósł 13 miesięcy natomiast przy wyniku ujemnym pacjenci żyli średnio powyżej 3 lat ( $p < 0.001$ ). Żaden z pacjentów z dodatnim wynikiem cytologii, u którego wykonano

zabieg paliatywny nie przeżył dłużej niż rok (38).

Analiza literatury pokazuje jak istotne są różnice pomiędzy badaniami w osiągniętych przeżyciach dwuletnich chorych z komórkami raka w popłuczynach otrzewnowych. W publikacjach Kodery i wsp., Ribeiro i wsp., Yonemury i wsp. autorzy nie uzyskali dwuletniego przeżycia po leczeniu operacyjnym raka żołądka (103,110,114). Na drugim biegunie są badania Rosenberga i wsp., Irinody i wsp., Katsuragi i wsp., w których prezentowane wskaźniki przeżyć dwuletnich chorych z fcc (+) wyniosły odpowiednio: 75%, 60%, 65% (104,115,116). Rozbieżności są wynikiem stosowania przez badaczy różnych technik detekcji komórek raka w popłuczynach oraz różnic w metodologii badania i w doświadczeniu między ośrodkami w przeprowadzaniu oceny płynu. Niemniej należy zauważyć, iż niezależnie od uzyskanych wyników, każdy z autorów w wyżej przytoczonych badaniach potwierdził istotną statystycznie różnicę w przeżyciach między pozytywnym a ujemnym wynikiem badania popłuczyn.

Rozsiew otrzewnowy, podobnie jak tylko obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych bez widocznego makroskopowo rozsiewu otrzewnowego kwalifikuje chorych zgodnie z wytycznymi klasyfikacji TNM do IV stopnia zaawansowania choroby nowotworowej. Osiągane przeżycia na podstawie danych z piśmiennictwa pomiędzy tymi grupami pacjentów nie różnią się istotnie. W badaniu Nath i wsp. autorzy badali popłuczyny otrzewnowe podczas laparoskopii diagnostycznej. Pacjenci z widocznym makroskopowo rozsiewem choroby niezależnie od wyniku badania popłuczyn oraz chorzy, którzy mieli dodatni wynik badania popłuczyn, ale nie było widocznych przerzutów w otrzewnej byli dyskwalifikowani z leczenia operacyjnego. Analiza przeżycia nie wykazała istotnie statystycznych różnic w przeżyciach chorych z rozsiewem otrzewnowym choroby w stosunku do chorych z tylko pozytywną cytologią otrzewnową (9 versus 13 miesięcy;  $p=0.517$ ) (108). Podobne wyniki prezentuje Badgwell i wsp. (39).

W związku z tym, iż chorych w IV stopniu zaawansowania choroby standardowo nie kwalifikuje się do leczenia operacyjnego, a także w kontekście opublikowanego w 2016 roku randomizowanego badania III fazy (REGATTA), które nie wykazało przewagi leczenia operacyjnego z następową chemioterapią w stosunku do samej chemioterapii w zaawansowanym raku żołądka z jednym niekorzystnym rokowniczo czynnikiem (przerzutem w wątrobie lub otrzewnej lub w węzłach okołoaortalnych) - powstaje

pytanie o zasadność resekcji żołądka u chorych resekcyjnych z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych (117).

W wytycznych JGCA z 2014 roku zawarte są zalecenia dotyczące postępowania z pacjentami fcc (+) - w przypadku, gdy wynik badania popłuczyn jest pozytywny i znany po przeprowadzeniu resekcji żołądka zalecanym sposobem postępowania jest stosowanie adiuwantowej chemioterapii S1. Autorzy zaleceń argumentują to wzrostem odsetka 5 - letnich przeżyć tych chorych z 7,8% do 26,6%. Natomiast w sytuacji, gdy wynik popłuczyn otrzewnowych jest pozytywny i przeprowadzony na etapie oceny stopnia zaawansowania choroby nowotworowej w trakcie diagnostycznej laparoskopii, zalecanym sposobem postępowania jest zastosowanie chemioterapii neoadiuwantowej opartej na S1 i cisplatinie. Zmiana statusu popłuczyn otrzewnowych fcc (+) na fcc (-) jest warunkiem kwalifikacji tych chorych do resekcji żołądka, w przypadku, gdy wynik mimo zastosowanej chemioterapii nadal jest pozytywny rekomenduje się leczenie paliatywnie (64).

W literaturze obecne są publikacje wskazujące na korzystny efekt resekcji żołądka u chorych fcc (+) bez rozsiewu otrzewnowego. Miyashiro i wsp. przedstawił dane wskazujące na korzyści z resekcji żołądka u pacjentów w grupie fcc (+) w stosunku do chorych z rozsiewem otrzewnowym choroby, u których nie wykonano zabiegu resekcyjnego. Średni czas życia w tych grupach wyniósł odpowiednio 18,4 mies. i 10,8 mies. ( $p=0018$ ). Przeżycia 3 letnie chorych fcc (+), którym wykonano resekcję żołądka wyniosły 24%, natomiast w przypadku stwierdzonego rozsiewu otrzewnowego odsetek ten był na poziomie 4% (118). Podobne korzyści z resekcji żołądka pacjentów fcc (+) przedstawił Fukugawa. Osiągnął on odsetek przeżyć 2 i 5 - letnich w grupie fcc (+) odpowiednio 25,3% i 7,8%. Przeżycia te były istotnie statystycznie lepsze ( $p = 000.2$ ) w stosunku do chorych nieresekowanych z rozsiewem otrzewnowym choroby. Ponadto autorzy nie odnotowali korzyści z zastosowania chemioterapii adiuwantowej (opartej na 5 - fluoruracyle) w grupie chorych resekowanych fcc (+) ( $p = 0.1238$ ) (35). Zarówno w pracy Miyashiro i Fukugawy wyniki badania popłuczyn otrzewnowych znane były po leczeniu operacyjnym oraz chorzy nie otrzymywali chemioterapii przed zabiegiem operacyjnym.

Z kolei w badaniach Mezhir i wsp., Lorenzen i wsp. oraz Badgwell i wsp. ocenę popłuczyn otrzewnowych wykonywano na etapie oceny stopnia zaawansowania choroby - w trakcie laparoskopii diagnostycznej. Pacjenci fcc (+) kwalifikowani byli w

pierwszym etapie leczenia do chemioterapii. Zmiana wyniku popłuczyn otrzewnowych z fcc (+) na fcc (-) po zastosowanym leczeniu miała korzystny wpływ na rokowanie(39,119,120).

Z naszej analizy wynika, że w grupie pacjentów, którym wykonano zabieg resekcyjny w zamiarze radykalny, przy pozytywnym wyniku badania popłuczyn chorzy żyli średnio 11 miesięcy. Natomiast średni czas przeżycia chorych nieresekcyjnych niezależnie od wyniku badania popłuczyn wyniósł 8,5 miesiąca (p=0.47). Przy czym należy zauważyć, iż u 8 z 10 chorych mimo zastosowanej chemioterapii przed operacją wynik badania popłuczyn w trakcie operacji był pozytywny, co świadczy o braku odpowiedzi na zastosowane leczenie u tych chorych, a w kontekście uzyskanych przez nas wyników przeżyć w tej grupie wydaje się mieć kluczowe znaczenie.

Nasze wyniki, podobnie jak wyniki wielu innych badań ewidentnie pokazują, iż wynik badania popłuczyn otrzewnowych powinien być znany przed podejmowaniem decyzji terapeutycznych gdyż ewentualną korzyść z leczenia operacyjnego mogą odnieść chorzy, którzy odpowiedzą na zastosowane leczenie przedoperacyjne, ale to wymaga potwierdzenia w badaniach randomizowanych.

#### **5.4. Czynniki wpływające na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych**

W naszym badaniu dokonaliśmy porównania pacjentów z fcc (+) i fcc (-), porównanie dotyczyło czynników klinicznych (demograficznych, wyników badań laboratoryjnych) oraz wyniku badania histopatologicznego materiału pooperacyjnego, a następnie staraliśmy się określić, które czynniki mają wpływ na wystąpienie pozytywnego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych.

Obie grupy nie różniły się między sobą pod względem demograficznym (płeć, wiek), nie zaobserwowano także istotnych różnic w poziomie HGB i markerów nowotworowych oznaczanych w surowicy krwi na etapie oceny stopnia zaawansowania choroby nowotworowej. W większości publikacji analiza czynników demograficznych i wyników badań laboratoryjnych nie wykazuje ich wpływu na wyniki badania popłuczyn. Należy jednak wspomnieć, iż w cytowanej już wcześniej pracy Bando i wsp. autorzy wykazali istotnie wyższe poziomy markerów nowotworowych CEA i Ca 19-9 w surowicy krwi u pacjentów z dodatnim wynikiem badania popłuczyn (36).

Różnice pomiędzy grupami fcc (+) i fcc (-) pojawiły się w trakcie analizy danych uzyskanych z raportu patologicznego materiału pooperacyjnego.

Wszyscy pacjenci, u których uzyskaliśmy pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych mieli guz w stopniu zaawansowania T3 i T4 i przerzuty raka w węzłach chłonnych. W sytuacji, gdy stopień inwazji był, co najmniej T3 – u 21% chorych stwierdziliśmy komórki raka w popłuczynach, a przypadku cechy N(+) odsetek ten wyniósł 24%. Ponadto w grupie chorych fcc (+) stwierdzaliśmy istotnie statystycznie więcej przerzutowych węzłów chłonnych.

W przytoczonym wcześniej badaniu Dutch Gastric Cancer Trial, autorzy analizowali czynniki, które mogą mieć wpływ na wystąpienie pozytywnego wyniku badania popłuczyn. Wykazali, iż zajęcie błony surowiczej przez proces nowotworowy wiązało się z jedenastokrotnie wyższym, a zajęcie układu chłonnego z pięciokrotnie wyższym ryzykiem wystąpienia pozytywnego wyniku cytologii otrzewnowej. W przypadku, gdy stwierdzano zajęcie błony surowiczej odsetek chorych z dodatnim wynikiem badania popłuczyn wyniósł 12% (38).

Podobne wyniki zostały opublikowane przez La Torre i wsp. Autorzy przeprowadzili analizę popłuczyn otrzewnowych u 64 pacjentów. W grupie z pozytywnym wynikiem 86% chorych miało stopień inwazji T3/T4 i wszyscy mieli przerzuty w węzłach chłonnych. Analiza grupy badanej wykazała, iż jeśli nowotwór był w stopniu zaawansowania, co najmniej T3, dodatni wynik popłuczyn otrzewnowych stwierdzano u 25% pacjentów, natomiast, gdy obecne były przerzuty w węzłach chłonnych u 19,4%. Zarówno stopień inwazji T3/T4 oraz cecha N(+) były istotnymi czynnikami wystąpienia pozytywnego wyniku cytologii otrzewnowej (121).

W pracy Bando i wsp. wykazano, że gdy guz był w stopniu inwazji T3/T4 wskaźnik detekcji fcc wyniósł 30%, autorzy nie określili zależności wyniku badania popłuczyn od stanu układu chłonnego, natomiast czynnikami istotnie wpływającymi na pozytywny wynik cytologii otrzewnowej okazały się - stopień inwazji T3/T4, niski stopień zróżnicowania komórek nowotworowych i wspomniany wcześniej poziom markerów nowotworowych w surowicy (36).

Podobnie jak większość dostępnych publikacji nasza praca wskazuje na korelację pozytywnego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania guza nowotworowego (cecha T) i z zajęciem regionalnych węzłów chłonnych (cecha N)

Z kolei w opublikowanej przez Badgwell i wsp. analizie, autorzy stwierdzili zależność wyniku badania popłuczyn od lokalizacji raka w żołądku. Postać „linitis plastica” oraz lokalizacja raka w połączeniu przełykowo - żołądkowym istotnie częściej występowały w grupie chorych z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn (39). W pracy Lee i wsp. autorzy również istotnie częściej obserwowali pozytywny wynik badania dla postaci „linitis plastica”. Istnieją także prace, przedstawiające zależność wyniku badania popłuczyn od rozmiaru guza nowotworowego (122). Suzuki i wsp. przedstawili dane, z których wynika, że w grupie fcc (+) średnica guza wynosiła średnio 9,7 cm w stosunku do średnicy guza 4,7 cm u chorych fcc (-) (123). Podobne wnioski zawarte są w publikacji Kodera i wsp. (103). Natomiast w pracy Lorenzen i wsp. (119) oraz Bentrem i wsp. (37) autorzy nie wykazali zależności między lokalizacją guza a obecnością komórek raka w jamie otrzewnej. W naszym materiale w przeprowadzonej analizie wieloczynnikowej zajęcie całego żołądka przez proces nowotworowy okazało się najsilniejszym czynnikiem i wiązało się z ponad dwudziestokrotnie wyższym ryzykiem wystąpienia pozytywnej cytologii, natomiast nie obserwowaliśmy istotnie częściej pozytywnego wyniku dla lokalizacji raka proksymalnej części żołądka. W badaniu nie uwzględniliśmy parametru, jakim jest średnica guza nowotworowego.

Kolejnymi parametrami wyraźnie różnicującym grupy fcc (+) i fcc (-) były stopień zróżnicowania G3 i typ rozlany wg Laurena. W przeprowadzonej analizie wieloczynnikowej typ rozlany wg Laurena obok zajęcia przez nowotwór całego żołądka miał największy współczynnik hazardu. Prace Katsuragi i wsp. (116), Lorenzen i wsp. (119), Lee i wsp. (122) nie potwierdziły dodatniej korelacji między typem rozlanym wg Laurena i pozytywnym wynikiem badania popłuczyn, co więcej w trakcie analizy piśmiennictwa nie napotkano publikacji, w której ten czynnik miałby istotny wpływ na wynik badania popłuczyn. Natomiast zdecydowanie częściej wykazywano wpływ niskiego stopnia zróżnicowania nowotworu na obecność komórek raka w otrzewnej(36,118,123).

Celem tej części naszego opracowania była identyfikacja czynników istotnie wpływających na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych. Wykazaliśmy, że pacjenci w stopniu zaawansowania T3/T4 N+, z niskozróżnicowany nowotworem o typie rozlanym, zajmującym cały żołądek powinni mieć obligatoryjnie wykonaną diagnostykę popłuczyn otrzewnowych. Wprawdzie nasza analiza opierała się na wynikach badań histopatologicznych preparatu operacyjnego, to jednak te same



informacje możemy uzyskać z wyników badań endoskopowych, obrazowych i histopatologicznych wykonywanych na etapie oceny stopnia zaawansowania choroby nowotworowej.

### **5.5. Proponowane strategie terapeutyczne u pacjentów z pozytywnym wynikiem badania płynu z otrzewnej na obecność wolnych komórek raka**

Aktualnie nie ma standardu leczenia dla pacjentów chorych na raka żołądka z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka. We wspomnianych wcześniej wytycznych japońskich leczenia raka żołądka z 2014 roku zaleca się stosowanie chemioterapii przedoperacyjnej (S1/cisplatyna), jeżeli wynik badania popłuczyn jest znany na etapie oceny stopnia zaawansowania choroby. Odpowiedź na chemioterapię (konwersja fcc (+) → fcc (-)) jest warunkiem kwalifikacji do resekcji żołądka. Natomiast w sytuacji, gdy wynik analizy popłuczyn otrzewnowych jest pozytywny i znany po resekcji żołądka w uzupełnieniu leczenia operacyjnego stosuje się chemioterapię S1 (64).

W literaturze obecne są także prace spoza Japonii wskazujące na korzystny efekt zastosowania chemioterapii w pierwszej linii leczenia u pacjentów fcc (+).

Mezhir i wsp. przedstawił wyniki leczenia 291 pacjentów z rakiem żołądka, u których stwierdzono obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych. Na etapie oceny stopnia zaawansowania choroby wykonywano laparoskopię diagnostyczną połączoną z analizą popłuczyn. Przy dodatnim wyniku – pacjenci kwalifikowani byli do chemioterapii, po czym 48 z nich ponownie oceniono wykonując laparoskopię diagnostyczną z badaniem popłuczyn. Leczenie neoadjuwantowe zmieniło status cytologiczny z dodatniego na ujemny u 27 pacjentów, natomiast u 21 wynik pozostał dodatni. U pacjentów, u których uzyskano pozytywną odpowiedź na leczenie średni czas wolny od nawrotu choroby wyniósł 2,5 roku w stosunku do 1,4 roku u pacjentów, u których nie uzyskano odpowiedzi na leczenie ( $p=0.0003$ ). W grupie 27 pacjentów z ujemnym wynikiem cytologii po leczeniu, 20 pacjentów poddano radykalnej operacji, 7 nie było operowanych, co więcej czas przeżycia w obu tych grupach był porównywalny(120).

Podobne wnioski zawarte są w badaniu Lorenzen i wsp. Autorzy wykonali analizę

popłuczyn otrzewnowych w trakcie laparoskopii diagnostycznej u 61 chorych. U 19 (31%) stwierdzono obecność komórek raka, natomiast u 42 chorych (69%) wynik badania był negatywny. Wszyscy pacjenci otrzymali chemioterapię (cisplatyna, fluorouracyl i kwas folinowy) przed definitywnym leczeniem operacyjnym. Ponowne badanie popłuczyn otrzewnowych po zastosowanym leczeniu systemowym wykazało konwersję wyniku z pozytywnego na ujemny u 7 z 19 pacjentów (37%), co miało korzystny wpływ na poprawę rokowania (mediana przeżycia – 36.1 miesiąca). Natomiast u chorych, u których nie obserwowano zmiany wyniku rokowanie było złe. (mediana przeżycia – 9.2 miesiąca) ( $p=0.002$ ). W trakcie badania odnotowano także niekorzystne zjawisko konwersji wyniku badania popłuczyn z negatywnego na pozytywny po zastosowanej chemioterapii. Tak sytuacja dotyczyła 10 z 42 chorych (24%), a średni czas przeżycia wyniósł 18,5 miesiąca (119).

Podobnie korzystny wpływ chemioterapii neoadiuwantowej na rokowanie pacjentów z pozytywnym wynikiem cytologii otrzewnowej, udowodnił Badgwell i wsp. 3 letnie przeżycie chorych fcc (+) po zastosowaniu chemioterapii było na poziomie 12 %. Dla porównania żaden pacjent nie przeżył tego okresu w przypadku, gdy nie stosowano chemioterapii ( $p=0.005$ ) (39).

W krajach azjatyckich alternatywą dla pacjentów z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych jest stosowanie chemioterapii S1 po resekcji żołądka.

W prospektywnym badaniu japońskim II fazy CCOG0301 autorzy ocenili wpływ chemioterapii S1 na przeżycie u 47 pacjentów po radykalnym leczeniu operacyjnym raka żołądka, u których stwierdzono pozytywny wynik cytologii otrzewnowej, bez innych wykładników rozsiewu choroby. Przeżycia 2 i 5 - letnie wyniosły 46% i 26% (64). Uzyskane wyniki okazały się znacznie korzystniejsze w porównaniu do wyników osiąganych w Japonii wcześniej u chorych leczonych tylko chirurgicznie (przeżycie 5-letnie – 7,8%) (35,64).

Pozytywny wpływ chemioterapii S1 podanej w uzupełnieniu leczenia chirurgicznego chorem z pozytywnym wynikiem cytologii otrzewnowej został udowodniony także w innych publikacjach (124). Niestety różnice w farmakokinetyce S1 wynikające z innych właściwości CYP2A6 (enzym odpowiedzialny za metabolizm S1) w populacji kaukaskiej nie pozwalają na osiągnięcie tak wysokich stężeń tego leku, co powoduje jego niską skuteczność w krajach nieazjatyckich.

Bardzo ciekawą opcję terapeutyczną zaprezentowano w randomizowanym badaniu Kuramoto i wsp. Autorzy tej pracy podzielili 88 pacjentów z rakiem żołądka, u których stwierdzono obecność wolnych komórek raka w jamie otrzewnej na trzy grupy: tylko leczonych chirurgicznie, leczonych chirurgicznie w połączeniu z chemioterapią dootrzewnową i chemioterapią systemową oraz trzecią leczoną chirurgicznie z zastosowaniem intensywnego płukania otrzewnej dziesięcioma litrami soli fizjologicznej w połączeniu z chemioterapią dootrzewnową i chemioterapią systemową. 5 letnie przeżycia pacjentów w poszczególnych grupach wyniosły odpowiednio 0%, 4,6% i 43,8% ( $P < 0.0001$ ). W trakcie obserwacji po leczeniu u 61 z 88 chorych (69,3%) stwierdzono nawrót choroby w postaci rozsiewu otrzewnowego. Przy czym odsetek chorych z rozsiewem otrzewnowym choroby w grupie gdzie zastosowano intensywne płukanie był najniższy – 40%, natomiast najwyższy odnotowano u chorych leczonych tylko chirurgicznie – 89,7% ( $p = 0.001$ ). Ponadto w przeprowadzonej wieloczynnikowej analizie wykazano, że intensywne płukanie otrzewnej jest jedynym istotnym czynnikiem wpływającym na rokowanie chorych fcc (+).

W drugim ramieniu tego badania stosowano chemioterapię dootrzewnową po leczeniu operacyjnym. 4,6% pacjentów przeżyło 5 lat po operacji, co jest wynikiem nieznacznie lepszym od tylko leczenia chirurgicznego (żaden pacjent nie przeżył 5 lat) i wskazuje na korzystny trend poprawy przeżyć przy zastosowaniu takiej metody terapeutycznej(125).

Wyniki zaprezentowane przez Kiyosaki i wsp. również wskazują na korzystny wpływ chemioterapii dootrzewnowej w leczeniu chorych z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn. Autorzy zastosowali chemioterapię dootrzewnową (cisplatyna, mitomycyna) w hipertermii (HIPEC) w uzupełnieniu radykalnej gastrektomii. W tym badaniu w sposób skojarzony: chirurgicznie i chemioterapią dootrzewnową leczono 15 chorych, natomiast tylko chirurgicznie 39 chorych. Przeżycia 5 letnie dla obu grup wyniosły odpowiednio 42% i 12% ( $p = 0.005$ ), ponadto odnotowano istotnie statystycznie wyższy odsetek nawrotów choroby w postaci rozsiewu otrzewnowego w grupie chorych operowanych bez chemioterapii (64.1% vs 46,7%)(126).

Za stosowaniem chemioterapii dootrzewnowej w raku żołądka przemawiają uzyskiwane wyniki leczenia innych nowotworów zajmujących otrzewną (rak jajnika, jelita grubego). Ponadto stosowanie dootrzewnowe leków pozwala na uzyskanie wyższego stężenia przez dłuższy okres czasu oraz wywołuje mniej objawów

niepożądanych w porównaniu z podaniem systemowym. Badania azjatyckie wykazały skuteczność procedury HIPEC (profilaktyczny HIPEC) w leczeniu uzupełniającym zaawansowanego raka żołądka, jako profilaktykę nawrotu choroby w postaci rozsiewu otrzewnowego – szczególnie w przypadku, gdy rak nacieka błonę surowiczą (127–131). Co więcej w piśmiennictwie obecne są publikacje opisujące efektywność tej procedury w leczeniu rozsiewu otrzewnowego. W badaniu randomizowanym III fazy Yang i wsp. wykazali różnicę w przeżyciach na korzyść chorych leczonych procedurą HIPEC (terapeutyczny HIPEC) po zabiegu cytoredukcyjnym raka żołądka z przerzutami do otrzewnej (Peritoneal Cancer Index (PCI) 3 - 20, średnio 15), w stosunku do chorych leczonych tylko operacyjnie. Mediana przeżycia w pierwszej grupie wyniosła 11 miesięcy (5.9% chorych przeżyło okres 3 lat po zabiegu), natomiast w grupie chorych leczonych chirurgicznie mediana wyniosła 6,5 miesiąca i żaden chory nie przeżył trzyletniego okresu obserwacji ( $p=0.046$ ). Nie odnotowano istotnej statystycznie różnicy w powikłaniach leczenia między grupami (93). W literaturze opublikowano wiele nierandomizowanych badań – zarówno retrospektywnych jak i prospektywnych, w których udowodniono skuteczność uzupełnienia zabiegu cytoredukcyjnego chemioterapią dootrzewnową w hipertermii, pacjentów w IV stopniu zaawansowania raka żołądka (132–137).

W 2017 roku przedstawiono interesujące wyniki badania II fazy zastosowania neoadiuwantowo chemioterapii systemowej i następnie chemioterapii dootrzewnowej w hipertermii podanej laparoskopowo u pacjentów z pozytywnym wynikiem badania cytologicznego popłuczyn otrzewnowych i/lub ograniczonym zajęciem otrzewnej w raku żołądka. Leczono 19 pacjentów (6 z tylko pozytywnym wynikiem cytologii i 13 z rozsiewem otrzewnowym). U 37% (7 z 19) chorych po zastosowanym leczeniu nie stwierdzono komórek raka w popłuczynach otrzewnowych i nie uwidoczniło ognisk raka w otrzewnej. Ci pacjenci byli kwalifikowani do resekcji, którą ostatecznie wykonano u 5 chorych. Mediana przeżycia chorych, poddanych gastrektomii wyniosła po zabiegu operacyjnym 29 miesięcy. Autorzy zwracają uwagę na stosunkowo duży odsetek odpowiedzi na zastosowaną chemioterapię oraz stosunkowo dobre wyniki leczenia w tym stopniu zaawansowania choroby nowotworowej (138).

Przedstawione wyniki leczenia są obiecujące, niemniej wymagają dalszych badań randomizowanych na większych grupach chorych w celu wypracowania najbardziej

efektywnego sposobu leczenia pacjentów z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych.

## 6. WNIOSKI

- 1 U 16% pacjentów leczonych operacyjnie z powodu raka żołądka stwierdzono obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych.
- 2 Stopień zaawansowania T3/T4, obecność przerzutów raka w węzłach chłonnych, typ rozlany wg Laurena i zajęcie całego żołądka przez proces nowotworowy to najistotniejsze czynniki wystąpienia pozytywnego wyniku badania popłuczyn otrzewnowych.
- 3 Pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym i wiąże się ze znacznie wyższym ryzykiem zgonu u chorych operowanych radykalnie w pierwszych dwóch latach po operacji.
- 4 Pacjenci, u których stwierdza się obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych nie odnoszą korzyści z radykalnego leczenia operacyjnego raka żołądka.

## 7. STRESZCZENIE

**Wstęp:** Rozsiew otrzewnowy jest częstym obrazem nawrotu choroby po radykalnym leczeniu operacyjnym raka żołądka. Wpływ na rozwój choroby w otrzewnej poza stopniem zaawansowania, mają także wolne komórki raka, które uległy złuszczeniu z masy guza lub z przerzutowo zmienionych węzłów chłonnych i mają zdolność do implantacji do otrzewnej. Zgodnie z klasyfikacją TNM (7 edycja; 2010) pacjenci z obecnością wolnych komórek raka w popłuczynach otrzewnowych klasyfikowani są do IV stopnia zaawansowania choroby nowotworowej. Pomimo tego faktu w ocenie przedoperacyjnej raka żołądka rzadko wykonuje się ocenę popłuczyn otrzewnowych w celu identyfikacji wolnych komórek raka.

**Cel pracy:** Celem pracy była analiza popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka oraz próba określenia jak wynik badania popłuczyn otrzewnowych koreluje z uzyskiwanymi wynikami leczenia pacjentów zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego z powodu raka żołądka.

**Materiał i metodyka:** Do badania kwalifikowano chorych z rakiem żołądka leczonych operacyjnie w Oddziale Chirurgii Wielkopolskiego Centrum Onkologii w Poznaniu w okresie od 1.07.2014 do 31.12.2016. W trakcie laparotomii po otwarciu jamy otrzewnowej w okolicę guza żołądka podawano 300 ml soli fizjologicznej o temperaturze 37 st. C. Po około 30 sekundach odzyskiwano 100 ml popłuczyn. Płyn ten poddawano odwirowaniu uzyskując osad. Z osadu otrzymywano preparaty cytologiczne, które następnie były barwione metodą hematoksyliny i eozyny. Pozostała część osadu posłużyła do wykonania cytobloczków parafinowych. W dalszej kolejności z otrzymanych cytobloczków skrawano skrawki parafinowe, które użyto do dalszych barwień podstawowych oraz immunohistochemicznych z wykorzystaniem pierwotnych przeciwciał przeciwko Ber-EP4, CK7/20 i B72.3. Wyniki analizy otrzewnowej zestawiono z informacjami uzyskanymi z badań obrazowych, endoskopowych i histopatologicznych.

**Wyniki:** Analizę popłuczyn otrzewnowych wykonano u 100 pacjentów zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego raka żołądka. Pozytywny wynik badania

popłuczyn na obecność komórek raka uzyskano u 16% chorych. W grupie pacjentów poddanych resekcji R0/R1 – odsetek ten wyniósł 13%. U 23 chorych w czasie laparotomii stwierdzono rozsiew otrzewnowy choroby nowotworowej lub miejscowe zaawansowanie uniemożliwiające wykonanie resekcji radykalnej. W tej grupie pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych uzyskano u 6 pacjentów (26%). Średni czas przeżycia w grupie fcc (+) wyniósł 9 miesięcy, natomiast w grupie fcc (-) 59% chorych przeżyło okres dwóch lat od zabiegu ( $p < 0.0001$ ). Wykazano, że obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym i wiąże się z pięciokrotnie wyższym ryzykiem zgonu pacjenta w pierwszych dwóch latach od operacji. Przeprowadzona analiza podgrupy pacjentów, którzy mieli wykonaną resekcję R0/R1, wykazała podobnie istotną statystycznie różnicę w przeżyciach na korzyść fcc (-) ( $p < 0.0001$ ). Ryzyko zgonu w podgrupie fcc (+)/(R0/R1) było 8 krotnie wyższe w pierwszych dwóch latach od zabiegu niż w grupie fcc (-). W podgrupie pacjentów nieresekcyjnych nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w przeżyciach pomiędzy fcc (+) i fcc (-) ( $p = 0.11$ ). Wykonana następnie analiza porównawcza przeżyć chorych z podgrup fcc (+) leczonych operacyjnie z zamiarem wyleczenia i chorych nieresekcyjnych niezależnie od wyniku badania popłuczyn nie wykazała istotnej statystycznie różnicy ( $p = 0,47$ ) (mediana przeżycia - 11 vs 9 miesięcy). Przeprowadzona analiza czynników mogących mieć wpływ na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych wykazała, iż najistotniejszymi parametrami wpływającymi na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych są - typ rozlany wg Laurena oraz zajęcie całego żołądka przez proces nowotworowy.

**Wnioski:** Obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym, a przeprowadzona analiza nie wykazała korzyści z radykalnego leczenia operacyjnego w grupie chorych z pozytywnym wynikiem badania popłuczyn otrzewnowych. Głównymi czynnikami wpływającymi na obecność wolnych komórek raka w popłuczynach otrzewnowych są typ rozlany raka wg Laurena oraz zajęcie całego żołądka przez proces nowotworowy. Rozszerzenie oceny stopnia zaawansowania choroby nowotworowej przed podjęciem decyzji terapeutycznych o laparoskopię diagnostyczną i ocenę popłuczyn w celu identyfikacji wolnych komórek raka ma istotne znaczenie dla określenia rokowania, a przede wszystkim identyfikuje



grupę chorych, która wymaga innego sposobu postępowania w celu poprawy wyników leczenia.

## 8. ABSTRACT

**Introduction:** Peritoneal dissemination is a common consequence of a relapse following radical surgical treatment of gastric cancer. The development of the disease in the peritoneum depends not only on its stage, but also on free cancer cells exfoliated from the tumor mass or from involved lymph nodes, and which are capable of being implanted in the peritoneum. According to the latest TNM (7 edition; 2010) classification, patients with free cancer cells in the peritoneal washings qualify for stage IV of the disease. Still, the evaluation of the washings for the presence of free cancer cells is seldom carried out while determining the pre-operative stage of gastric cancer.

**Objective:** The aim of the paper was to analyze peritoneal washings for the presence of free cancer cells and to attempt to determine how the examination of the peritoneal washings correlates with the results of the treatment of patients qualified for surgical treatment of gastric cancer.

**Material and method:** The study enrolled patients with gastric cancer who underwent surgical treatment for gastric cancer at the Department of Oncological Surgery, Greater Oncology Center in Poznań in the period from 1.07.2014 to 31.12.2016. During the laparotomy, after opening the peritoneal cavity, 300 ml of physiological saline at 37°C was administered in the tumor region. After approximately 30 seconds 100 ml of lavage fluid was collected. The fluid was subsequently spun to obtain sediment for cytology. The cytology specimens were then subjected to the hematoxylin and eosin staining. The remaining sediment was used for paraffin embedded cytoblocks. Then paraffin scrapes were obtained from the cytoblocks and used for further basic and immunohistochemistry stainings using anti—Ber-EP4, CK7/20 and B72.3. The results of the peritoneal analysis were then compared with the information obtained from diagnostic imaging and endoscopic and histopathological examinations.

**Results:** Analysis of the peritoneal fluid was done in 100 patients qualified for surgical treatment of gastric cancer. A positive result of the examination of peritoneal washings for the presence of cancer cells was found in 16% of patients. In patients subjected to

R0/R1 resection - the percentage was 13 %. In twenty-three patients, during laparotomy, peritoneal dissemination of cancer or the local advancement of the disease was detected, thus rendering the performance of radical resection on the patients impossible. In this group a positive result of the examination of peritoneal washings was found in 6 patients (26%). Average survival time in fcc (+) group was 9 months, whereas in fcc (-) group 59% of the patients lived up to 2 years following the surgery ( $p < 0.0001$ ). It was found out that the presence of cancer cells in peritoneal washings is a negative prognostic factor and the risk of death in the first two years following the surgery is five times higher. An analysis carried out in a sub-group of patients who underwent R0 resection showed a similar, statistically significant difference in the survival rate in favor of fcc (-) ( $p < 0.0001$ ). The risk of death in the fcc (+)/ R0 was eight times higher in the first two years following the surgery than in the fcc (-) group. In the sub-group of non-resection patients no statistically significant difference in the survival rate between fcc (+) and fcc (-) ( $p = 0.11$ ) was found out. A comparative analysis of the survival rate of fcc (+) sub-group patients who underwent surgery and patients who were non-resection irrespective of the result of the examination of peritoneal washings did not show a statistically significant difference ( $p = 0.47$ ) (median survival - 11 vs. 9 months.) An analysis of factors, which may contribute to the positive result of the examinations of peritoneal washings, shows that the most significant factors influencing that positive result include - diffuse histological type according to Lauren classification and cancer located in the whole stomach.

**Conclusions:** The presence of cancer cells in peritoneal washing constitutes a negative prognostic factor. And the relevant analysis showed that radical surgery in the group of patients with a positive result of peritoneal washing examination is of no use. The main factors determining the presence of free cancer cells in peritoneal washings are diffuse histological type according to Lauren classification and cancer located in the whole stomach. Before taking therapeutic decisions it is vital to determine the advancement of the disease by making use of diagnostic laparoscopy and to assess peritoneal lavage for the presence of free cancer cells. This is particularly important if prognosis is to be determined, but also allows us to identify those patients who require a different treatment to achieve the best possible results.

## 9. PIŚMIENNICTWO

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, i in. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):359–86.
2. Wojciechowska U, Olasek P, Czuderna K, Didkowska U. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2014 roku. Krajowy Rejestr Nowotworów; 2016.
3. Wojciechowska U, Didkowska J. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej - Curie. [Internet]. [cytowane 20 wrzesień 2017]. Dostępne na: <http://onkologia.org.pl/raporty/>
4. Correa P. Chronic gastritis: a clinico-pathological classification. *Am J Gastroenterol*. 1988;83(5):504–9.
5. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process—first American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. *Cancer Res*. 1992;52(24):6735–6740.
6. Rowland M, Daly L, Vaughan M, Higgins A, Bourke B, Drumm B. Age-specific incidence of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 2006;130(1):65–72.
7. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2002;347(15):1175–1186.
8. Laszewicz W. Wyniki badań nad zakażeniem *Helicobacter pylori*. Trans - Humana Wydawnictwo Uniwersyteckie - Białystok; 2004.
9. Smoot DT. How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? Direct mechanisms. *Gastroenterology*. 1997;113(6):31–34.
10. Malinowska M, Nasierowska-Guttmejer A. Epidemiologia i patogeneza raka żołądka. *Pol J Pathol Suppl*. 2013;2013(3):17–26.
11. Szmidt J, Gruca Z, Krawczyk M, Kuźdżał J. Podstawy chirurgii. Podręcznik dla lekarzy specjalizujących się w chirurgii ogólnej. Kraków: Medycyna Praktyczna; 2009.
12. Vogelaar IP, van der Post RS, Bisseling TM, van Krieken JHJ, Ligtenberg MJ, Hoogerbrugge N. Familial gastric cancer: detection of a hereditary cause helps to understand its etiology. *Hered Cancer Clin Pract*. 2012;10(1):18.
13. Stone J, Bevan S, Cunningham D, Hill A, Rahman N, Peto J, i in. Low frequency of germline E-cadherin mutations in familial and nonfamilial gastric cancer. *Br J Cancer*. 1999;79(11–12):1935–7.

14. Jeziorski A, Szawłowski A, Towpik E. Chirurgia onkologiczna tom I-IV. Warszawa: PZWL; 2009.
15. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system. World Health Organization; 2010.
16. Washington K. of the AJCC cancer staging manual: stomach. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(12):3077–3079.
17. Siewert JR, Stein HJ. Classification of adenocarcinoma of the oesophagogastric junction. *Br J Surg*. 1998;85(11):1457–1459.
18. Hu B, El Hajj N, Sittler S, Lammert N, Barnes R, Meloni-Ehrig A. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *J Gastrointest Oncol*. 2012;3(3):251–61.
19. Hamilton SR, Aaltonen LA, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System: WHO Classification of Tumours, Volume 2. [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2000 [cytowane 18 października 2017]. Dostępne na: <http://public.ebib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=282401>
20. Sasako M, Kinoshita T, Maruyama K. Prognosis of early gastric cancer. *Stomach Intest*. 1993;28:139–46.
21. Everett SM, Axon AT. Early gastric cancer in Europe. *Gut*. 1997;41(2):142–50.
22. Popiela T, Kulig J, Kolodziejczyk P, Sierzega M. Changing patterns of gastric carcinoma over the past two decades in a single institution: clinicopathological findings in 1557 patients. *Scand J Gastroenterol*. 2002;37(5):561–567.
23. Tsubono Y, Hisamichi S. Screening for gastric cancer in Japan. *Gastric Cancer Off J Int Gastric Cancer Assoc Jpn Gastric Cancer Assoc*. 2000;3(1):9–18.
24. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. *Gastric Cancer*. 2011;14:101–12.
25. Kolegium Lekarzy Rodzinnych w Polsce. Wytyczne Kolegium Lekarzy Rodzinnych w Polsce oraz European Society for Primary Care Gastroenterology (ESPCG) Zasady postępowania w dyspepsji, chorobie wrzodowej i infekcji *Helicobacter pylori*. Kraków: Medycyna Praktyczna; 2016.
26. Jeziorski A, Rutkowski P. Kompendium Chirurgii Onkologicznej. Gdańsk: Via Medica; 2014.
27. Bentrem D, Gerdes H, Tang L, Brennan M, Coit D. Clinical correlation of endoscopic ultrasonography with pathologic stage and outcome in patients undergoing curative resection for gastric cancer. *Ann Surg Oncol*. 2007;14(6):1853–1859.

28. Polkowski W, Łacko A, Guzel Z. Nowotwory żołądka. Krzakowski M. i wsp. (red.). Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych. Tom I. Gdańsk: Via Medica; 2013.
29. Yun M. Imaging of Gastric Cancer Metabolism Using 18 F-FDG PET/CT. *J Gastric Cancer*. 2014;14(1):1–6.
30. Choi J-I, Joo I, Lee JM. State-of-the-art preoperative staging of gastric cancer by MDCT and magnetic resonance imaging. *World J Gastroenterol*. 2014;20(16):4546–57.
31. Leake P-A, Cardoso R, Seevaratnam R, Lourenco L, Helyer L, Mahar A, i in. A systematic review of the accuracy and indications for diagnostic laparoscopy prior to curative-intent resection of gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2012;15(1):38–47.
32. Karanicolas PJ, Elkin EB, Jacks LM, Atoria CL, Strong VE, Brennan MF, i in. Staging laparoscopy in the management of gastric cancer: a population-based analysis. *J Am Coll Surg*. 2011;213(5):644–651.
33. Champault G, Barrat C. Laparoscopy in the staging of cancer of the stomach. *J Chir (Paris)*. 1999;136(3):150–155.
34. Lowy AM, Mansfield PF, Leach SD, Ajani J. Laparoscopic staging for gastric cancer. *Surgery*. 1996;119(6):611–4.
35. Fukagawa T, Katai H, Saka M, Morita S, Sasajima Y, Taniguchi H, i in. Significance of lavage cytology in advanced gastric cancer patients. *World J Surg*. 2010;34(3):563–568.
36. Bando E, Yonemura Y, Takeshita Y, Taniguchi K, Yasui T, Yoshimitsu Y, i in. Intraoperative lavage for cytological examination in 1,297 patients with gastric carcinoma. *Am J Surg*. 1999;178(3):256–62.
37. Bentrem D, Wilton A, Mazumdar M, Brennan M, Coit D. The value of peritoneal cytology as a preoperative predictor in patients with gastric carcinoma undergoing a curative resection. *Ann Surg Oncol*. 2005;12(5):347–353.
38. Bonenkamp JJ, Songun I, Hermans J, Velde V, De CJH. Prognostic value of positive cytology findings from abdominal washings in patients with gastric cancer. *Br J Surg*. 1996;83(5):672–674.
39. Badgwell B, Cormier JN, Krishnan S, Yao J, Staerkel GA, Lupo PJ, i in. Does neoadjuvant treatment for gastric cancer patients with positive peritoneal cytology at staging laparoscopy improve survival? *Ann Surg Oncol*. 2008;15(10):2684–2691.
40. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese Classification of Gastric Carcinoma – 2nd English Edition –. *Gastric Cancer*. 1 grudzień 1998;1(1):10–24.

41. Maehara Y, Hasuda S, Koga T, Tokunaga E, Kakeji Y, Sugimachi K. Postoperative outcome and sites of recurrence in patients following curative resection of gastric cancer. *Br J Surg.* 2000;87(3):353–357.
42. Yoo CH, Noh SH, Shin DW, Choi SH, Min JS. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. *Br J Surg.* 2000;87(2):236–242.
43. Yonemura Y, Endou Y, Sasaki T, Hirano M, Mizumoto A, Matsuda T, i in. Surgical treatment for peritoneal carcinomatosis from gastric cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2010;36(12):1131–8.
44. Kusamura S, Baratti D, Zaffaroni N, Villa R, Laterza B, Balestra MR, i in. Pathophysiology and biology of peritoneal carcinomatosis. *World J Gastrointest Oncol.* 2010;2(1):12–8.
45. Kostić Z, Ćuk V, Bokun R, Ignjatović D, Ušaj-Knežević S, Ignjatović M. Detection of free cancer cells in peritoneal cavity in patients surgically treated for gastric adenocarcinoma. *Vojnosanit Pregl.* 2006;63(4):349–356.
46. Yonemura Y, Nojima N, Kaji M, Fujimura T, Itoh H, Ninomiya I, i in. E-cadherin and urokinase-type plasminogen activator tissue status in gastric carcinoma. *Cancer.* 1995;76(6):941–953.
47. Jayne DG. The molecular biology of peritoneal carcinomatosis from gastrointestinal cancer. *Ann Acad Med Singapore.* 2003;32(2):219–225.
48. Yonemura Y, Endo Y, Fujita H, Kimura K, Sugiyama K, Momiyama N, i in. Inhibition of peritoneal dissemination in human gastric cancer by MMP-7-specific antisense oligonucleotide. *J Exp Clin Cancer Res.* 2001;20(2):205–212.
49. Sacchi G, Di Paolo N, Venezia F, Rossi A, Nicolai GA, Garosi G. Possible role of milky spots in mesothelial transplantation. *Int J Artif Organs.* 2007;30(6):520–526.
50. Leake P-A, Cardoso R, Seevaratnam R, Lourenco L, Helyer L, Mahar A, i in. A systematic review of the accuracy and utility of peritoneal cytology in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer.* 2012;15(1):27–37.
51. Lisiecki R, Kruszwicka M, Spychała A, Murawa D. Prognostic significance, diagnosis and treatment in patients with gastric cancer and positive peritoneal washings. A review of the literature. *Rep Pract Oncol Radiother.* 2017;22(6):434–40.
52. Benevolo M, Mottolese M, Cosimelli M, Tedesco M, Giannarelli D, Vasselli S, i in. Diagnostic and prognostic value of peritoneal immunocytology in gastric cancer. *J Clin Oncol.* 1998;16(10):3406–3411.
53. Wang J-Y, Lin S-R, Lu C-Y, Chen C-C, Wu D-C, Chai C-Y, i in. Gastric cancer cell detection in peritoneal lavage: RT-PCR for carcinoembryonic antigen transcripts versus the combined cytology with peritoneal carcinoembryonic antigen levels. *Cancer Lett.* 2005;223(1):129–135.

54. Asao T, Nagamachi Y, Fukuda T, Yazawa S. Carcinoembryonic antigen levels in peritoneal washings can predict peritoneal recurrence after curative resection of gastric cancer. *Cancer*. 1991;68(1):44–47.
55. Nishiyama M, Takashima I, Tanaka T, Yoshida K, Toge T, Nagata N, i in. Carcinoembryonic antigen levels in the peritoneal cavity: useful guide to peritoneal recurrence and prognosis for gastric cancer. *World J Surg*. 1995;19(1):133–137.
56. Sakakura C, Takemura M, Hagiwara A, Shimomura K, Miyagawa K, Nakashima S, i in. Overexpression of dopa decarboxylase in peritoneal dissemination of gastric cancer and its potential as a novel marker for the detection of peritoneal micrometastases with real-time RT–PCR. *Br J Cancer*. 2004;90(3):665–71.
57. Yonemura Y, Fujimura T, Ninomiya I, Kim B-S, Bandou E, Sawa T, i in. Prediction of peritoneal micrometastasis by peritoneal lavaged cytology and reverse transcriptase-polymerase chain reaction for matrix metalloproteinase-7 mRNA. *Clin Cancer Res*. 2001;7(6):1647–1653.
58. Péan JE. De l'ablation des tumeurs de l'estomac par la gastrectomie. *Gaz Hôp*. 1879;60:473.
59. Rydygier L. Über Magenresektion mit Demonstration von Präparaten. *Langgenbeck Arch F Klin Chir*. 1881;26:731.
60. Billroth T. Offenes schreiben an Herr, Dr. L. Wittelshofer. *Wien Med Wochenschr*. 1881;26:731.
61. Santoro E. The history of gastric cancer: legends and chronicles. *Gastric Cancer*. 2005;8(2):71–74.
62. Wang Z, Ma L, Zhang X-M, Zhou Z-X. Risk of lymph node metastases from early gastric cancer in relation to depth of invasion: experience in a single institution. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(13):5371–5375.
63. Kulig J, Wallner G, Drews M, Frańczek M, Jeziorski A, Kielan W, i in. Polish consensus on treatment of gastric cancer; update 2013. *Pol J Surg*. 2013;85(9):544–562.
64. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4). *Gastric Cancer*. 2017;20(1):1–19.
65. Amenabar A, Hoppo T, Jobe BA. Surgical management of gastroesophageal junction tumors. *Semin Radiat Oncol*. styczeń 2013;23(1):16–23.
66. Sica GS, Iaculli E, Biancone L, Di Carlo S, Scaramuzzo R, Fiorani C, i in. Comparative study of laparoscopic vs open gastrectomy in gastric cancer management. *World J Gastroenterol*. 2011;17(41):4602.
67. Goh PMY, Alponat A, Mak K, Kum CK. Early international results of laparoscopic gastrectomies. *Surg Endosc*. 1997;11(6):650–652.



68. Weber KJ, Reyes CD, Gagner M, Divino CM. Comparison of laparoscopic and open gastrectomy for malignant disease. *Surg Endosc.* 2003;17(6):968–971.
69. Yoshikawa T, Fukunaga T, Taguri M, Kunisaki C, Sakuramoto S, Ito S, i in. Laparoscopic or open distal gastrectomy after neoadjuvant chemotherapy for operable gastric cancer, a randomized Phase II trial (LANDSCOPE trial). *Jpn J Clin Oncol.* 2012;42(7):654–657.
70. Smyth EC, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2016;27(5):38–49.
71. Siewert JR, Böttcher K, Stein HJ, Roder JD. Relevant prognostic factors in gastric cancer: ten-year results of the German Gastric Cancer Study. *Ann Surg.* 1998;228(4):449.
72. Maruyama K. The most important prognostic factors for gastric cancer patients: a study using univariate and multivariate analyses. *Scand J Gastroenterol.* 1987;22(133):63–68.
73. Kim J-P, Lee J-H, Kim S-J, Yu H-J, Yang H-K. Clinicopathologic characteristics and prognostic factors in 10 783 patients with gastric cancer. *Gastric Cancer.* 1998;1(2):125–133.
74. Lai JF, Kim S, Kim K, Li C, Oh SJ, Hyung WJ, i in. Prediction of recurrence of early gastric cancer after curative resection. *Ann Surg Oncol.* 2009;16(7):1896–1902.
75. Marchet A, Mocellin S, Ambrosi A, Morgagni P, Garcea D, Marrelli D, i in. The ratio between metastatic and examined lymph nodes (N ratio) is an independent prognostic factor in gastric cancer regardless of the type of lymphadenectomy: results from an Italian multicentric study in 1853 patients. *Ann Surg.* 2007;245(4):543–52.
76. Lin D, Li Y, Xu H, Chen J, Wang B, Liu C, i in. Lymph node ratio is an independent prognostic factor in gastric cancer after curative resection (R0) regardless of the examined number of lymph nodes. *Am J Clin Oncol.* 2013;36(4):325–330.
77. Fuchs R, Guggenberger, D, Neuman U, Trautwein C. Nowotwory przewodu pokarmowego. Diagnostyka i leczenie - red. wyd. pol. Wojciech Polkowski. Lublin: Czelej; 2012.
78. Bonenkamp JJ, Songun I, Welvaart K, van de Velde CJH, Hermans J, Sasako M, i in. Randomised comparison of morbidity after D1 and D2 dissection for gastric cancer in 996 Dutch patients. *The Lancet.* 1995;345(8952):745–748.
79. Cuschieri A, Joypaul V, Fayers P, Cook P, Fielding J, Craven J, i in. Postoperative morbidity and mortality after D1 and D2 resections for gastric cancer: preliminary results of the MRC randomised controlled surgical trial. *The Lancet.* 1996;347(9007):995–999.

80. Songun I, Putter H, Kranenbarg EM-K, Sasako M, van de Velde CJ. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow-up results of the randomised nationwide Dutch D1D2 trial. *Lancet Oncol.* 2010;11(5):439–449.
81. Lavy R, HersHKovitz Y, Chikman B, Shapira Z, Poluksht N, Yarom N, i in. D1 versus D2 Gastrectomy for Gastric Adenocarcinoma. *Isr Med Assoc J.* 2015;17(12):735–8.
82. Degiuli M, Sasako M, Ponti A. Morbidity and mortality in the Italian Gastric Cancer Study Group randomized clinical trial of D1 versus D2 resection for gastric cancer. *Br J Surg.* 2010;97(5):643–649.
83. Kulig J, Popiela T, Kolodziejczyk P, Sierzega M, Szczepanik A, Group PGCS. Standard D2 versus extended D2 (D2+) lymphadenectomy for gastric cancer: an interim safety analysis of a multicenter, randomized, clinical trial. *Am J Surg.* 2007;193(1):10–15.
84. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, Hundahl SA, Estes NC, Stemmermann GN, i in. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med.* 2001;345(10):725–730.
85. Dikken JL, Jansen EP, Cats A, Bakker B, Hartgrink HH, Kranenbarg EM-K, i in. Impact of the extent of surgery and postoperative chemoradiotherapy on recurrence patterns in gastric cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28(14):2430–2436.
86. Kim S, Lim DH, Lee J, Kang WK, MacDonald JS, Park CH, i in. An observational study suggesting clinical benefit for adjuvant postoperative chemoradiation in a population of over 500 cases after gastric resection with D2 nodal dissection for adenocarcinoma of the stomach. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;63(5):1279–1285.
87. Park SH, Sohn TS, Lee J, Lim DH, Hong ME, Kim K-M, i in. Phase III trial to compare adjuvant chemotherapy with capecitabine and cisplatin versus concurrent chemoradiotherapy in gastric cancer: final report of the adjuvant chemoradiotherapy in stomach tumors trial, including survival and subset analyses. *J Clin Oncol.* 2015;33(28):3130–3136.
88. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, i in. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med.* 2006;355(1):11–20.
89. Ychou M, Boige V, Pignon J-P, Conroy T, Bouché O, Lebreton G, i in. Perioperative chemotherapy compared with surgery alone for resectable gastroesophageal adenocarcinoma: an FNCLCC and FFCO multicenter phase III trial. *J Clin Oncol.* 2011;29(13):1715–1721.
90. Sasako M, Sakuramoto S, Katai H, Kinoshita T, Furukawa H, Yamaguchi T, i in. Five-year outcomes of a randomized phase III trial comparing adjuvant chemotherapy with S-1 versus surgery alone in stage II or III gastric cancer. *J Clin Oncol.* 2011;29(33):4387–4393.

91. Bang Y-J, Kim Y-W, Yang H-K, Chung HC, Park Y-K, Lee KH, i in. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl.* 2012;379(9813):315–21.
92. Bang Y-J, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, i in. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *The Lancet.* 2010;376(9742):687–697.
93. Yang X-J, Huang C-Q, Suo T, Mei L-J, Yang G-L, Cheng F-L, i in. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy improves survival of patients with peritoneal carcinomatosis from gastric cancer: final results of a phase III randomized clinical trial. *Ann Surg Oncol.* 2011;18(6):1575–1581.
94. De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P, Pierannunzio D, i in. Cancer survival in Europe 1999–2007 by country and age: results of EURO-CARE-5—a population-based study. *Lancet Oncol.* 2014;15(1):23–34.
95. Karanicolas PJ, Elkin EB, Jacks LM, Strong VE, Brennan MF, Coit DG. Underuse of staging laparoscopy for gastric cancer results in a high rate of futile laparotomy in the USA. *J Am Coll Surg.* 2010;211(3):106.
96. Ajani JA, D’Amico TA, Almhanna K, Bentrem DJ, Chao J, Das P, i in. Gastric cancer, version 3.2016, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2016;14(10):1286–1312.
97. Roviario GC, Varoli F, Sonnino D, Nucca O, Rabughino G, Scarduelli A. Can routine laparoscopy help to reduce the rate of explorative laparotomies for gastric cancer? Laparoscopy in gastric cancer. *Diagn Ther Endosc.* 2000;6(3):125–131.
98. Arnold JC, Neubauer HJ, Zöpf T, Schneider A, Benz C, Adamek HE, i in. Improved tumor staging by diagnostic laparoscopy. *Z Gastroenterol.* 1999;37(6):483–488.
99. Blackshaw GR, Barry JD, Edwards P, Allison MC, Thomas GV, Lewis WG. Laparoscopy significantly improves the perceived preoperative stage of gastric cancer. *Gastric Cancer.* 2003;6(4):225–229.
100. De Graaf GW, Ayantunde AA, Parsons SL, Duffy JP, Welch NT. The role of staging laparoscopy in oesophagogastric cancers. *Eur J Surg Oncol.* 2007;33(8):988–992.
101. Deogracias ML, Rodriguez-Sanjuan JC, de la Torre F, Garcia RA, Trugeda MS, Dominguez A, i in. Absence of port-site metastases following staging laparoscopy for gastric carcinoma. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006;98(10):755–9.
102. Feussner H, Omote K, Fink U, Walker SJ, Siewert JR. Pretherapeutic laparoscopic staging in advanced gastric carcinoma. *Endoscopy.* 1999;31(05):342–347.

103. Kodera Y, Yamamura Y, Shimizu Y, Torii A, Hirai T, Yasui K, i in. Peritoneal washing cytology: prognostic value of positive findings in patients with gastric carcinoma undergoing a potentially curative resection. *J Surg Oncol.* 1999;72(2):60–64.
104. Rosenberg R, Nekarda H, Bauer P, Schenck U, Hoefler H, Siewert JR. Free peritoneal tumour cells are an independent prognostic factor in curatively resected stage IB gastric carcinoma. *Br J Surg.* 2006;93(3):325–331.
105. Nekarda H, Gess C, Stark M, Mueller JD, Fink U, Schenck U, i in. Immunocytochemically detected free peritoneal tumour cells (FPTC) are a strong prognostic factor in gastric carcinoma. *Br J Cancer.* 1999;79(3–4):611.
106. Vogel P, Rüschoff J, Kümmel S, Zirngibl H, Hofstädter F, Hohenberger W, i in. Immunocytology improves prognostic impact of peritoneal tumour cell detection compared to conventional cytology in gastric cancer. *Eur J Surg Oncol.* 1999;25(5):515–519.
107. Burke EC, Karpeh MS, Conlon KC, Brennan MF. Peritoneal lavage cytology in gastric cancer: an independent predictor of outcome. *Ann Surg Oncol.* 1998;5(5):411–415.
108. Nath J, Moorthy K, Tanriere P, Hallissey M, Alderson D. Peritoneal lavage cytology in patients with oesophagogastric adenocarcinoma. *Br J Surg.* 2008;95(6):721–726.
109. Li J-K, Zheng M, Miao C-W, Zhang J-H, Ding G-H, Wu W-S. Peritoneal lavage cytology and carcinoembryonic antigen determination in predicting peritoneal metastasis and prognosis of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2005;11(46):7374.
110. Yonemura Y, Endou Y, Fujimura T, Fushida S, Bandou E, Kinoshita K, i in. Diagnostic value of preoperative RT-PCR-based screening method to detect carcinoembryonic antigen-expressing free cancer cells in the peritoneal cavity from patients with gastric cancer. *ANZ J Surg.* 2001;71(9):521–528.
111. Fujii S, Kitayama J, Kaisaki S, Sasaki S, Seto Y, Tominaga O, i in. Carcinoembryonic antigen mRNA in abdominal cavity as a useful predictor of peritoneal recurrence of gastric cancer with serosal exposure. *J Exp Clin Cancer Res.* 2002;21(4):547–553.
112. Tokuda K, Natsugoe S, Nakajo A, Miyazono F, Ishigami S, Hokita S, i in. Clinical significance of CEA-mRNA expression in peritoneal lavage fluid from patients with gastric cancer. *Int J Mol Med.* 2003;11(1):79–84.
113. Kodera Y, Nakanishi H, Yamamura Y, Shimizu Y, Torii A, Hirai T, i in. Prognostic value and clinical implications of disseminated cancer cells in the peritoneal cavity detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and cytology. *Int J Cancer.* 1998;79(4):429–433.
114. Ribeiro U, Safatle-Ribeiro AV, Zilberstein B, Mucerino D, Yagi OK, Jacob CE, i in. Does the intraoperative peritoneal lavage cytology add prognostic information in

- patients with potentially curative gastric resection? *J Gastrointest Surg.* 2006;10(2):170–177.
115. Irinoda T, Terashima M, Takagane A, Sasaki N, Abe K, Araya M, i in. Carcinoembryonic antigen level in peritoneal washing is a prognostic factor in patients with gastric cancer. *Oncol Rep.* 1998;5(3):661–667.
  116. Katsuragi K, Yashiro M, Sawada T, Osaka H, Ohira M, Hirakawa K. Prognostic impact of PCR-based identification of isolated tumour cells in the peritoneal lavage fluid of gastric cancer patients who underwent a curative R0 resection. *Br J Cancer.* 2007;97(4):550.
  117. Fujitani K, Yang H-K, Mizusawa J, Kim Y-W, Terashima M, Han S-U, i in. Gastrectomy plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric cancer with a single non-curable factor (REGATTA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(3):309–318.
  118. Miyashiro I, Takachi K, Doki Y, Ishikawa O, Ohigashi H, Murata K, i in. When is curative gastrectomy justified for gastric cancer with positive peritoneal lavage cytology but negative macroscopic peritoneal implant? *World J Surg.* 2005;29(9):1131–1134.
  119. Lorenzen S, Panzram B, Rosenberg R, Nekarda H, Becker K, Schenk U, i in. Prognostic significance of free peritoneal tumor cells in the peritoneal cavity before and after neoadjuvant chemotherapy in patients with gastric carcinoma undergoing potentially curative resection. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(10):2733–2739.
  120. Mezhir JJ, Shah MA, Jacks LM, Brennan MF, Coit DG, Strong VE. Positive peritoneal cytology in patients with gastric cancer: natural history and outcome of 291 patients. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(12):3173–3180.
  121. La Torre M, Ferri M, Giovagnoli MR, Sforza N, Cosenza G, Giarnieri E, i in. Peritoneal wash cytology in gastric carcinoma. Prognostic significance and therapeutic consequences. *Eur J Surg Oncol EJSO.* 2010;36(10):982–986.
  122. Lee SD, Ryu KW, Eom BW, Lee JH, Kook MC, Kim Y-W. Prognostic significance of peritoneal washing cytology in patients with gastric cancer. *Br J Surg.* 2012;99(3):397–403.
  123. Suzuki T, Ochiai T, Hayashi H, Hori S, Shimada H, Isono K. Peritoneal lavage cytology findings as prognostic factor for gastric cancer. *W: Seminars in surgical oncology.* Wiley Online Library; 1999. s. 103–107.
  124. Ako E, Ohira M, Yamashita Y, Kubo N, Muguruma K, Yashiro M, i in. Efficacy of S-1 for gastric cancer patients with positive peritoneal lavage cytology. *Hepatogastroenterology.* 2008;55(86–87):1939–1942.
  125. Kuramoto M, Shimada S, Ikeshima S, Matsuo A, Yagi Y, Matsuda M, i in. Extensive intraoperative peritoneal lavage as a standard prophylactic strategy for peritoneal recurrence in patients with gastric carcinoma. *Ann Surg.* 2009;250(2):242–246.

126. Coccolini F, Catena F, Glehen O, Yonemura Y, Sugarbaker PH, Piso P, i in. Effect of intraperitoneal chemotherapy and peritoneal lavage in positive peritoneal cytology in gastric cancer. Systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*. 2016;42(9):1261–1267.
127. Koga S, Hamazoe R, Maeta M, Shimizu N, Murakami A, Wakatsuki T. Prophylactic therapy for peritoneal recurrence of gastric cancer by continuous hyperthermic peritoneal perfusion with mitomycin C. *Cancer*. 1988;61(2):232–237.
128. Hamazoe R, Maeta M, Kaibara N. Intraperitoneal thermochemotherapy for prevention of peritoneal recurrence of gastric cancer. Final results of a randomized controlled study. *Cancer*. 1994;73(8):2048–2052.
129. Ikeguchi M, Kondou A, Oka A, Tsujitani S, Maeta M, Kaibara N. Effects of continuous hyperthermic peritoneal perfusion on prognosis of gastric cancer with serosal invasion. *Eur J Surg Acta Chir*. 1995;161(8):581–586.
130. Yonemura Y, De Aretxabala X, Fujimura T, Fushida S, Katayama K, Bandou E, i in. Intraoperative chemohyperthermic peritoneal perfusion as an adjuvant to gastric cancer: final results of a randomized controlled study. *Hepatogastroenterology*. 2001;48(42):1776–1782.
131. Kim J-Y, Bae H-S. A controlled clinical study of serosa-invasive gastric carcinoma patients who underwent surgery plus intraperitoneal hyperthermo-chemo-perfusion (IHCP). *Gastric Cancer*. 2001;4(1):27–33.
132. Yonemura Y, Fujimura T, Nishimura G, Falla R, Sawa T, Katayama K, i in. Effects of intraoperative chemohyperthermia in patients with gastric cancer with peritoneal dissemination. *Surgery*. 1996;119(4):437–444.
133. Fujimoto S, Takahashi M, Mutou T, Kobayashi K, Toyosawa T, Isawa E, i in. Improved mortality rate of gastric carcinoma patients with peritoneal carcinomatosis treated with intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion combined with surgery. *Cancer*. 1997;79(5):884–891.
134. Glehen O, Schreiber V, Cotte E, Sayag-Beaujard AC, Osinsky D, Freyer G, i in. Cytoreductive surgery and intraperitoneal chemohyperthermia for peritoneal carcinomatosis arising from gastric cancer. *Arch Surg*. 2004;139(1):20–6.
135. Yonemura Y, Kawamura T, Bandou E, Takahashi S, Sawa T, Matsuki N. Treatment of peritoneal dissemination from gastric cancer by peritonectomy and chemohyperthermic peritoneal perfusion. *Br J Surg*. 2005;92(3):370–375.
136. Scaringi S, Kianmanesh R, Sabate JM, Facchiano E, Jouet P, Coffin B, i in. Advanced gastric cancer with or without peritoneal carcinomatosis treated with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: a single western center experience. *Eur J Surg Oncol EJSO*. 2008;34(11):1246–1252.
137. Yang X-J, Li Y, Yonemura Y. Cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy to treat gastric cancer with ascites and/or

peritoneal carcinomatosis: Results from a Chinese center. *J Surg Oncol.* 2010;101(6):457–464.

138. Badgwell B, Blum M, Das P, Estrella J, Wang X, Fournier K, i in. Lessons learned from a phase II clinical trial of laparoscopic HIPEC for gastric cancer. *Surg Endosc.* 2017;1–1.

## 10. WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

<b>ACTS – GC</b>	badanie randomizowane dotyczące skuteczności pooperacyjnej chemioterapii w leczeniu raka żołądka (ang. Adjuvant Chemotherapy Trial of TS-1 for Gastric Cancer)
<b>AJCC</b>	American Joint Committee on Cancer
<b>APC</b>	gen supresorowy związany z rodzinną polipowatością gruczołkową (ang. adenomatous polyposis coli)
<b>Ber – EP4</b>	antygen nabłonkowy wykazujący ekspresję w komórkach rakowych
<b>BLM</b>	gen biorący udział w procesie transkrypcji oraz odpowiedzialny za naprawę uszkodzeń DNA
<b>BRCA1</b>	gen supresorowy związany z dziedzicznym występowaniem nowotworów
<b>BRCA2</b>	gen supresorowy związany z dziedzicznym występowaniem nowotworów
<b>B72.3</b>	przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko glikoproteinie TAG – 72 obecnej w gruczołakorakach
<b>cagA</b>	cytotoksyna produkowana przez bakterię <i>Helicobacter pylori</i> .
<b>Ca 19-9</b>	marker nowotworowy
<b>CA 72.4</b>	marker nowotworowy
<b>CDH1</b>	gen supresorowy kodujący białko E-kadherynę (ang. E-cadherin)
<b>CEA</b>	antygen karcynoembrionalny (ang. carcino-embryonic antigen)
<b>CLASSIC</b>	badanie randomizowane dotyczące skuteczności pooperacyjnej chemioterapii w leczeniu raka żołądka (ang. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy)
<b>CT</b>	tomografia komputerowa (ang. computer tomography)
<b>CYP2A6</b>	enzym odpowiedzialny za metabolizm S1
<b>CK7/CK20</b>	cytokeratyna7/cytokeratyna 20
<b>DAB</b>	peroxidase substrate solution
<b>DDD</b>	dopa decarboxylaza
<b>ECF</b>	schemat chemioterapii – epirubicyna, cysplatyna, fluorouracyl
<b>ECX</b>	schemat chemioterapii – epirubicyna, cysplatyna, kapecytabina
<b>EMR</b>	mukozektomia endoskopowa (ang. endoscopic mucosal resection)
<b>EOX</b>	schemat chemioterapii – epirubicyna, okasliplatyna, fluorouracyl



<b>ESD</b>	endoskopowa dyssekcja podśluzówkowa (ang. endoscopic submucosal dissection)
<b>ESMO</b>	European Society Of Medical Oncology
<b>ESPCG</b>	European Society for Primary Care Gastroenterology
<b>EUROCARE-5</b>	Europejski Rejestr Nowotworów Dotyczący Przeżyć i Opieki nad Pacjentami Nowotworowymi - badanie nr 5 (ang. - European Cancer Registry Based Study on Survival and Care of Cancer Patients)
<b>FCC</b>	wolne komórki raka w popłuczynach otrzewnowych (ang. free cancer cells)
<b>FFCD 9703</b>	francuskie badanie randomizowane dotyczące skuteczności zastosowania okołooperacyjnej chemioterapii w leczeniu raka żołądka
<b>GIST</b>	nowotwór podścieliskowy przewodu pokarmowego (ang. gastrointestinal stromal tumor)
<b>HEA 125</b>	przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko antygenom ep – cam komórek raka (ang. anti – Epcam antibody)
<b>HER2</b>	ludzki receptor naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (ang. human epidermal growth factor receptor type 2)
<b>HGB</b>	hemoglobina
<b>HIPEC</b>	perfuzyjna chemioterapia dootrzewnowa w hipertermii (ang. hyperthermic intraperitoneal chemotherapy)
<b>HNPCC</b>	dziedziczny niezwiązany z polipowatością rak jelita grubego (ang. hereditary nonpolyposis colon cancer)
<b>HR</b>	współczynnik ryzyka względnego (ang. hazard ratio)
<b>HRP</b>	peroxydaza chrzanowa (ang. horseradish peroxidase)
<b>JGCA</b>	Japanese Gastric Cancer Association
<b>LNR</b>	wskaźnik węzłów chłonnych (ang. lymph node ratio)
<b>MAGIC</b>	badanie randomizowane dotyczące skuteczności zastosowania okołooperacyjnej chemioterapii w leczeniu raka żołądka (ang. MCR Adjuvant Gastric Cancer Infusional Chemotherapy)
<b>MALT</b>	rodzaj chłoniaka obwodowego z grupy komórek B (ang. MALT lymphoma)
<b>MLH1</b>	gen należący do grupy genów naprawczych DNA (ang. mismatch repair MMG)
<b>MMP – 7</b>	matrix metalloproteinase-7

<b>MR</b>	rezonans magnetyczny (ang. magnetic resonance)
<b>mRNA</b>	matrycowy kwas rybonukleinowy (ang. matrix ribonucleic acid)
<b>MSH2</b>	gen należący do grupy genów naprawczych DNA (ang. mismatch repair MMG)
<b>MSH6</b>	gen należący do grupy genów naprawczych DNA (ang. mismatch repair MMG)
<b>NEJM</b>	The New England Journal of Medicine
<b>NET</b>	guzy neuroendokrynne (ang. neuroendocrine tumor)
<b>NCCN</b>	National Comprehensive Cancer Network
<b>PCI</b>	Peritoneal Cancer Index
<b>PET</b>	pozytonowa tomografia emisyjna (ang. positron emission tomography)
<b>PET – CT</b>	pozytonowa tomografia emisyjna w połączeniu z tomografią
<b>PMS1</b>	gen należący do grupy genów naprawczych DNA (ang. mismatch repair MMG)
<b>PMS2</b>	gen należący do grupy genów naprawczych DNA (ang. mismatch repair MMG)
<b>PTEN</b>	gen supresorowy odpowiedzialny za regulację cyklu komórkowego związany z dziedzicznym występowaniem nowotworów
<b>pTNM</b>	patologiczna klasyfikacja stopnia zaawansowania nowotworów złośliwych
<b>p53</b>	czynnik transkrypcyjny o własnościach supresora nowotworowego
<b>ROC</b>	Receiver Operating Characteristics Curves
<b>RT – PCR</b>	reakcja łańcuchowa polimerazy DNA z analizą ilości produktu w czasie rzeczywistym (ang. real-time PCR)
<b>SEER</b>	Surveillance, Epidemiology and End Results
<b>SRC adenoca.</b>	gruczolakorak sygnetowatokomórkowy (ang. signet ring cell adenocarcinoma)
<b>sTNM</b>	śródooperacyjna klasyfikacja stopnia zaawansowania nowotworów złośliwych
<b>STK11</b>	gen supresorowy kodujący kinazę serynowo-tyreoninową
<b>S1</b>	chemioterapia adiuwantowa oparta na lekach: tegafur, gimeracyl, oteracyl
<b>TNM</b>	klasyfikacja stopnia zaawansowania nowotworów złośliwych (ang. Tumour, Nodes, Metastases)

<b>ToGA</b>	badanie randomizowane oceniające skuteczność transtuzumabu w połączeniu z chemioterapią w leczeniu raka żołądka
<b>UICC</b>	Union for International Cancer Control
<b>US Intergroup -0116</b>	badanie randomizowane dotyczące skuteczności zastosowania pooperacyjnej chemioradioterapii w leczeniu raka żołądka
<b>vacA</b>	toksyna wakuolizująca produkowana przez bakterię <i>Helicobacter pylori</i> .
<b>WHO</b>	World Health Organisation

## 11. SPIS TABEL I RYCIN

<i>Rycina 1. Trend zachorowalności na nowotwory żołądka w Polsce w latach 1980-2010 (a) – wszyscy chorzy, (b) – wybrane grupy wiekowe (3).....</i>	<i>5</i>
<i>Rycina 2. Struktura zachorowań na nowotwory złośliwe w Polsce w 2014 r wśród mężczyzn i kobiet (2). .....</i>	<i>6</i>
<i>Rycina 3. Trendy umieralności na nowotwory żołądka w Polsce w latach 1965-2010. (a) - wszyscy chorzy, (b) - wybrane grupy wiekowe (3). .....</i>	<i>7</i>
<i>Rycina 4. Endoskopowa klasyfikacja wczesnego raka żołądka (24). .....</i>	<i>17</i>
<i>Rycina 5. Klasyfikacja Boarmanna zaawansowanego raka żołądka (24). .....</i>	<i>18</i>
<i>Rycina 6. Porównanie obrazów cytologii otrzewnowej. Po stronie lewej – obraz prawidłowy. Po stronie prawej obecność komórek raka w popłuczynach otrzewnowych (40). .....</i>	<i>22</i>
<i>Rycina 7. Stacje węzłów chłonnych okołożołądkowych (40). .....</i>	<i>31</i>
<i>Rycina 8. Algorytm diagnostyczno – terapeutyczny stosowany w raku żołądka. ....</i>	<i>38</i>
<i>Rycina 9. Schemat przedstawiający decyzje diagnostyczno - terapeutyczne w trakcie zabiegu operacyjnego. ....</i>	<i>40</i>
<i>Rycina 10. Wyniki badania popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka. ....</i>	<i>47</i>
<i>Rycina 11. Udział metod diagnostycznych potwierdzających pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych - wszyscy fcc (+). .....</i>	<i>48</i>
<i>Rycina 12. Udział metod diagnostycznych potwierdzających pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych - pacjenci resekcijni fcc (+). .....</i>	<i>49</i>
<i>Rycina 13. Udział metod diagnostycznych potwierdzających pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych - pacjenci nieresekcijni fcc (+). .....</i>	<i>49</i>

Rycina 14. Rozkład płci w grupach fcc (+) i fcc (-).....	50
Rycina 15. Wiek chorych w grupach fcc (-) i fcc (+) p=0,47.....	51
Rycina 16. Poziom HGB w grupach chorych fcc (-) i fcc (+) przed zabiegiem operacyjnym p=0,16.....	51
Rycina 17. Wartość CEA w grupach chorych fcc (-) i fcc (+) przed zabiegiem operacyjnym p=0,32.....	51
Rycina 18. Wartość Ca 19-9 w grupach chorych fcc (-) i fcc (+) przed zabiegiem operacyjnym p=0,09 .....	51
Rycina 19. Wartość Ca 72.4 w grupach chorych fcc (-) i fcc (+) przed zabiegiem operacyjnym p=0,06 .....	51
Rycina 20. Średnia liczba usuwanych węzłów chłonnych u pacjentów poddanych resekcji raka żołądka w grupach chorych fcc (+) i fcc (-) (p=0,73).....	57
Rycina 21. Średnia liczba zajętych węzłów chłonnych u pacjentów poddanych resekcji raka żołądka w grupach fcc (+) i fcc (-) (p=0,014).....	57
Rycina 22. Krzywa przeżycia Kaplana –Meiera dla grup fcc (+) i fcc (-) (p<0.0001).....	60
Rycina 23. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera dla pacjentów resekcyjnych (p<0,0001)...	61
Rycina 24. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera dla podgrup chorych w stopniu zaawansowania T3/T4N+ (p=0,003).....	63
Rycina 25. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera pacjentów nieresekcyjnych z grup fcc (+) i fcc (-) (p=0,11). .....	64
Rycina 26. Krzywe przeżycia Kaplana – Meiera dla resekcyjnych z grupy fcc (+) i nieresekcyjnych z grup fcc (+) i fcc (-) (p=0,47).....	65
Rycina 27. Krzywa ROC dla Ca 19-9 (AUC =0,631; p=0,15).....	67
Rycina 28. Krzywa ROC dla CEA (AUC=0,578; p=0,35).....	68

<i>Rycina 29. Krzywa ROC dla C72.4 (AUC=0,648; p=0,053).....</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 1. Klasyfikacja histologiczna raka żołądka według WHO z 2010 roku (15).....</i>	<i>11</i>
<i>Tabela 2. Ocena stopnia dojrzałości (zróżnicowania) raka żołądka (G).....</i>	<i>11</i>
<i>Tabela 3. Klasyfikacja zaawansowania TNM dla raka żołądka (VII edycja) (16).....</i>	<i>13</i>
<i>Tabela 4. Stopnie zaawansowania klinicznego raka żołądka (16).....</i>	<i>14</i>
<i>Tabela 5. Regionalne węzły chłonne według JGCA (40).....</i>	<i>30</i>
<i>Tabela 6. Wyniki analizy danych klinicznych i histopatologicznych grupy badanej.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabela 7. Wyniki badania popłuczyn otrzewnowych na obecność wolnych komórek raka dla poszczególnych metod diagnostycznych.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabela 8. Leczenie okołoperacyjne i pooperacyjne w grupach fcc (+) i fcc (-).....</i>	<i>52</i>
<i>Tabela 9. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od lokalizacji raka w żołądku.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabela 10. Zależność wyników badania popłuczyn otrzewnowych od typu histologicznego wg Laurena.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabela 11. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od stopnia złośliwości histologicznej (G).....</i>	<i>54</i>
<i>Tabela 12. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od stopnia zaawansowania TNM.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabela 13. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od stopnia inwazji (T)....</i>	<i>56</i>
<i>Tabela 14. Zależność wyniku badania popłuczyn otrzewnowych od stanu układu chłonnego (N).....</i>	<i>56</i>

<i>Tabela 15. Wyniki badania popłuczyn otrzewnowych w zależności od radykalności resekcji (R).....</i>	<i>58</i>
<i>Tabela 16. Przeżycia w grupach chorych fcc (+) i fcc (-).....</i>	<i>59</i>
<i>Tabela 17. Przeżycia chorych resekcyjnych w grupach fcc (+) i fcc (-).....</i>	<i>61</i>
<i>Tabela 18. Przeżycia chorych z grup fcc (+) i fcc (-) w stopniu zaawansowania choroby T3/T4N+ .....</i>	<i>62</i>
<i>Tabela 19. Przeżycia chorych nieresekcyjnych z grup fcc (+) i fcc (-) .....</i>	<i>63</i>
<i>Tabela 20. Przeżycia chorych resekcyjnych fcc (+) i nieresekcyjnych fcc (+) i fcc (-) .....</i>	<i>65</i>
<i>Tabela 21. Regresja logistyczna parametrów mogących mieć wpływ na pozytywny wynik badania popłuczyn otrzewnowych .....</i>	<i>66</i>