

Typ histologiczny wg klasyfikacji Lauréna w gruczolakoraku przełyku (raku Barretta) i nadekspresja onkogeny *c-erbB-2*, są uznanymi czynnikami rokowniczymi – podobnie jak w raku żołądka. W niniejszej pracy badano wartość rokowniczą typu histologicznego i nadekspresji *c-erbB-2* w gruczolakoraku przełyku. Guzy sklasyfikowano jako typ jelitowy, mieszany i rozlany, odpowiednio w 54 proc., 32 proc. i 15 proc. Guzy typu rozlanego charakteryzowały się gorszym rokowaniem niż guzy typu jelitowego. Wartość prognostyczna klasyfikacji Lauréna była niezależna od stopnia zaawansowania. Nadekspresję *c-erbB-2* stwierdzono w 24 proc. nowotworów, wyłącznie w guzach jelitowych i obszarach typu jelitowego guzów mieszanych. Wszystkie guzy *c-erbB-2*-pozytywne były w III^o/IV^o zaawansowania, podczas gdy żaden z guzów w I^o/II^o zaawansowania nie wykazywał nadekspresji tego onkogeny.

Wnioski:

- 1) klasyfikacja Lauréna jest niezależnym czynnikiem rokowniczym w gruczolakoraku przełyku,
- 2) guzy typu jelitowego i rozlanego różnią się onkogenetycznie,
- 3) nadekspresja *c-erbB-2* zależy od stopnia zaawansowania, pojawiając się na późnym etapie progresji nowotworowej.

Słowa kluczowe: gruczolakorak przełyku, klasyfikacja Lauréna, onkogeny, chirurgia, rokowanie

Rokowanie po radykalnej resekcji przełyku z powodu gruczolakoraka w zależności od klasyfikacji Lauréna i nadekspresji onkogeny *c-erbB-2*

Prognosis after radical esophagectomy for adenocarcinoma of the esophagus according to Laurén classification and c-erbB-2 oncogene overexpression

Wojciech Polkowski^{1, 3}, Johanna W. van Sandick¹, G. Johan A. Offerhaus², Fiebo J.W. ten Kate², Hugo Obertop¹, J. Jan B. van Lanschot¹

WSTĘP

W ostatnim dziesięcioleciu, w Stanach Zjednoczonych i krajach Europy Zachodniej obserwuje się dramatyczny wzrost występowania gruczolakoraka przełyku i połączenia przełykowo-żołądkowego (PŻP) [1, 12, 19, 20]. Większość z tych nowotworów powstaje na podłożu przełyku Barretta (tzw. rak Barretta) [2]. Rokowanie u chorych z tymi nowotworami wciąż pozostaje złe [5]. Przyczyną tego jest znaczne zaawansowanie choroby w chwili manifestacji klinicznej. Rokowanie po leczeniu chirurgicznym raka przełyku i wpustu uzależnione jest głównie od zaawansowania guza [22]. Z powodu ograniczonej wydolności diagnostyki przedoperacyjnej, poszukuje się dodatkowych czynników rokowniczych (typ histologiczny, markery molekularne).

Histo-kliniczna klasyfikacja Lauréna dzieli gruczolakoraka żołądka na dwa zasadnicze typy: jelitowy oraz rozlany [17]. Guzy, które tworzą mieszaninę obydwu typów histologicznych charakteryzują się naciekaniami bardziej zbliżonym do typu rozlanego niż jelitowego [6]. W raku żołądka klasyfikacja Lauréna jest niezależnym czynnikiem rokowniczym [21]. Guzy typu jelitowego charakteryzują się lepszym rokowaniem, co potwierdza spostrzeżenie autorów polskich [16].

Nadekspresja onkogeny *c-erbB-2* uważana jest za wartościowy czynnik prognostyczny u chorych z rakiem Barretta [18]. Rokowanie u chorych z guzami *c-erbB-2*-pozytywnymi jest istotnie gorsze niż u chorych z guzami *c-erbB-2*-negatywnymi [7, 18]. Nadekspresja *c-erbB-2* charakteryzuje szczególnie agresywne postaci raka Barretta, a ponadto może być markerem wrażliwości na przedoperacyjną chemio-/radioterapię [4, 9].

Celem niniejszej pracy jest:

- ocena występowania typów histologicznych wg klasyfikacji Lauréna i ich wartości rokowniczej w gruczolakoraku przełyku i PŻP,
- ocena występowania nadekspresji onkogeny *c-erbB-2* i jej wartości rokowniczej w tych nowotworach,
- zbadanie zależności pomiędzy typem histologicznym wg klasyfikacji Lauréna a ekspresją onkogeny *c-erbB-2*.

MATERIAŁ I METODA

Do badań wykorzystano materiał operacyjny 41 chorych, operowanych w Klinice Chirurgii Akademickiego Centrum Medycznego Uniwersytetu w Amsterdamie (Holandia), w latach 1993-1996. Wśród nich było 34 mężczyzn oraz 7 kobiet, w wieku od 41 do 78 lat (średnia \pm SD: 61.5 \pm 9.8). Wycięcia przełyku dokonano z powodu gruczolakoraka przełyku (n=23) lub PŻP (n=18). Wszystkie operacje przeprowadzono z dostępu przezopłucnowego, a liczba usuniętych węzłów chłonnych wynosiła od 11 do 56 (mediana: 27).

Rozpoznanie przełyku Barretta oparto na wykazaniu obecności metaplaszji jelitowej wokół guza pierwotnego. Opierając się na histo-morfologicznych badaniach porównawczych, uważa się, że gruczolakorak przełyku i PŻP powinny być rozpatrywane jako ta sama jednostka chorobowa [10]. Określenie stopnia zaawansowania raka PŻP wg kryteriów dla raka przełyku lepiej spełnia funkcje rokownicze niż wg kryteriów dla raka żołądka [24]. Stopień zaawansowania, zarówno gruczolakoraków przełyku, jak i PŻP określono przy pomocy klasyfikacji pTNM wg UICC z 1992 r. dla raka przełyku [11]. Wszystkie analizowane resekcje były mikroskopowo radykalne (R0).

¹ Department of Surgery, Academic Medical Center, University of Amsterdam (Holandia)

² Department of Pathology, Academic Medical Center, University of Amsterdam (Holandia)

³ II Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej Akademii Medycznej w Lublinie

The aim of this study was to investigate the prognostic significance of the Laurén classification and *c-erbB-2* oncogene overexpression in adenocarcinoma of the esophagus and/or gastro-esophageal junction (GEJ). Forty-one adenocarcinomas of the esophagus and/or GEJ were reviewed for tumor stage, Laurén classification, and *c-erbB-2* by immunohistochemistry. According to the Laurén classification, tumors were classified as intestinal, mixed, or diffuse in 54%, 32%, and 15%, respectively. Diffuse tumors had a significantly worse prognosis than intestinal tumors. The prognostic value of the Laurén classification was independent of stage. *C-erbB-2* overexpression was detected in 24% of the tumors and was present exclusively in intestinal tumors and in intestinal-type areas of mixed tumors. Ten of the 30 stage III/IV tumors were *c-erbB-2* positive, while none of the 11 stage I/II tumors overexpressed the oncogene product.

Conclusions:

- 1) the Laurén classification is independent prognostic factor in adenocarcinoma of the esophagus and GEJ,
- 2) intestinal and diffuse tumors differ oncogenetically,
- 3) *c-erbB-2* overexpression is associated with stage of disease.

Key words: Adenocarcinoma of the esophagus, Laurén classification, oncogenes, surgery, prognosis

Tab. 1. Związek pomiędzy klasyfikacją Lauréna, stopniem zróżnicowania guza i obecnością śluzówki PB w sąsiedztwie guza pierwotnego. Wartości w nawiasach stanowią odsetki (proc.)

| Klasyfikacja Lauréna | Stopień zróżnicowania | | Przełyk Barretta | |
|----------------------|-----------------------|----------------|------------------|----------------|
| | G1/G2 | G3 | obecny | brak |
| typ jelitowy (n=22) | 13 (59) | 9 (41) | 13 (50) | 9 (60) |
| typ mieszany (n=13) | 2 (15) | 11 (85) | 10 (39) | 3 (20) |
| typ rozlany (n=6) | 0 (0) | 6 (100) | 3 (11) | 3 (20) |
| Razem (n=41) | 15 (37) | 26 (63) | 26 (63) | 15 (37) |

Tab. 2. Istotność czynników rokowniczych w jednoczynnikowej analizie przeżycia 39 chorych z gruczolakorakiem przełyku i/lub PŻP

| Czynnik | Grupy | wartość p (test log-rank) |
|---|---------------------------------|---------------------------|
| Stopień zaawansowania | I vs II vs III vs IV | 0,003 |
| | pT | 0,012 |
| | pN | 0,017 |
| Stopień zróżnicowania | G1/G2 vs G3 | 0,95 |
| Typ histologiczny wg klasyfikacji Lauréna | Jelitowy vs Mieszany vs Rozlany | 0,03 |
| | Jelitowy vs Rozlany | 0,018 |
| <i>c-erbB-2</i> | Pozytywny vs Negatywny | 0,21 |
| | | 0,049* |

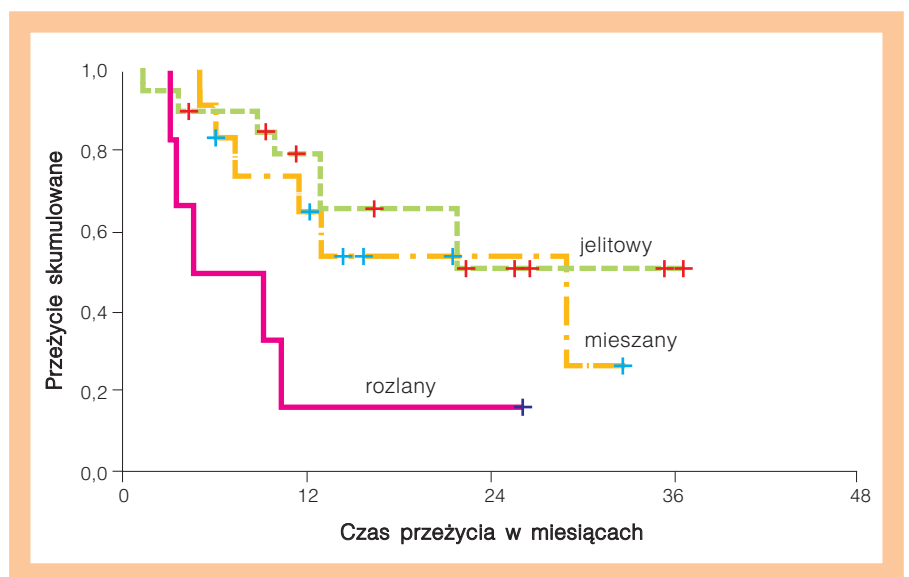
* wyłącznie guzy jelitowe i mieszane (n=33)

Typ histologiczny gruczolakoraków przełyku i/lub PŻP określono na podstawie preparatów H&E wg klasyfikacji Lauréna [17]. Oceniano również stopień zróżnicowania nowotworów, wyłączając z analizy raki niezróżnicowane (G4).

Odpowiadające preparatom H&E skrawki parafinowe wykorzystano do barwień immunohistochemicznych (IHC) *c-erbB-2*, z użyciem przeciwciała monoklonalnego *c-neu* (Ab-3) klon 3B5 (kod OP15, *Oncogene Science*, Cambridge, USA) [23]. Jako kontrolę pozytywną dla *c-erbB-2* użyto gruczolakoraka sutka o wysokiej ekspresji tego

onkogenu. W kontroli negatywnej barwienia IHC przeprowadzono z pominięciem specyficznego przeciwciała.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy pomocy oprogramowania komputerowego SPSS. Parametry liczbowe przedstawiono jako mediana z zakresem wartości. Zastosowane testy statystyczne sprawdzono przy konwencjonalnym 5 proc. poziomie istotności. Do sporządzenia krzywych przeżycia chorych wykorzystano metodę Kaplan-Meiera. Do analizy wieloczynnikowej przeżycia, uwzględniającej 3 czynniki (stopień zaawansowania, typ histologiczny i *c-erbB-2*), zastosowano model regresji Coxa.



Ryc. 1. Przeżycie u 39 chorych z gruczolakorakiem przełyku i/lub PŻP w zależności od typu histologicznego wg klasyfikacji Lauréna (p=0,03; test log-rank)

Tab. 3. Nadekspresja c-erbB-2 w zależności od cech histopatologicznych 41 gruczolakoraków. Wartości w nawiasach stanowią odsetki (proc.)

| | c-erbB-2 | | wartość p (test Fishera) |
|--|-----------|-----------|-----------------------------|
| | pozytywny | negatywny | |
| klasyfikacja Lauréna | | | |
| guzy jelitowe (n=22) lub obszary typu jelitowego guzów mieszanych (n=13) | 10 (29) | 25 (71) | 0,01 |
| guzy rozlane (n=6) lub obszary typu rozlanego guzów mieszanych (n=13) | 0 (0) | 19 (100) | |
| stopień zaawansowania | | | |
| I°/II° (n=11) | 0 (0) | 11 (100) | 0,04 |
| III°/IV° (n=30) | 10 (33) | 20 (67) | |
| stopień zróżnicowania | | | |
| G1/G2 (n=15) | 5 (33) | 10 (67) | 0,53 |
| G3 (n=26) | 5 (19) | 21 (81) | |
| przełyk Barretta | | | |
| Obecny (n=26) | 6 (23) | 20 (77) | 0,91 |
| Brak (n=15) | 4 (27) | 11 (73) | |

Tematem badania jest morfologia nowotworu, dlatego też z analizy przeżycia wykluczono chorych, którzy zmarli w szpitalu z powodu powikłań pooperacyjnych (śmiertelność pooperacyjna: 2/41, 5 proc.). Wszyscy pozostający pod obserwacją chorzy (n = 39) przeszli badania kontrolne co 3 miesiące. Czas obserwacji wahał się od 2 do 37 miesięcy (średnia \pm SD: 14,8 \pm 9,7). W czasie obserwacji 19 chorych zmarło z powodu nawrotu choroby nowotworowej.

WYNIKI

Wg klasyfikacji Lauréna stwierdzono 22 guzy (54 proc.) typu jelitowego, 13 (32 proc.) typu mieszanego oraz 6 (15 proc.) typu rozlanego. Rozkład stopnia zaawansowania przedstawiał się następująco: 8 guzów – I°, 3 guzy – II° (2 – IIA i 1 – IIB), 11 guzów – III° oraz 19 guzów – IV° (pM1 Lym+; pozytywne węzły chłonne ok. pnia trzewne-

go). Zajęte przerzutami węzły chłonne (pN1) stwierdzono w 31 przypadkach. W 15 przypadkach rozpoznano dobrze/umiarkowanie zróżnicowanego gruczolakoraka (G1/G2). Pozostałe 26 guzów oceniono jako gruczolakoraki nisko zróżnicowane (G3). Obecność śluzówki Barretta w sąsiedztwie guza wykazano w 26 przypadkach. Tabela 1. przedstawia zależność pomiędzy klasyfikacją Lauréna, stopniem zróżnicowania guza i obecnością przełyku Barretta w sąsiedztwie guza.

W jednoczynnikowej analizie przeżycia stwierdzono istotne różnice czasu przeżycia chorych w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu ($p=0,003$; test *log-rank*) (tab. 2.). Podobnie cechy pT i pN były istotnymi czynnikami rokowniczymi. Stwierdzono znaczne różnice czasu przeżycia chorych w zależności od typu histologicznego guza wg klasyfikacji Lauréna ($p=0,03$; test *log-rank*)

(tab. 2., ryc. 1.). Guzy typu rozlanego charakteryzowały się istotnie gorszym rokowaniem niż guzy typu jelitowego ($p=0,018$, tab. 2.).

Nadekspresję c-erbB-2 wykryto w 10 spośród 41 guzów (24 proc.). Wyniki barwienia c-erbB-2 IHC w zależności od cech histopatologicznych przedstawia tabela 3.

Nadekspresję c-erbB-2 stwierdzono tylko w guzach jelitowych lub obszarach typu jelitowego guzów mieszanych (10/35), podczas gdy wszystkie obszary typu rozlanego były c-erbB-2-negatywne (0/19) ($p=0,01$; test Fishera).

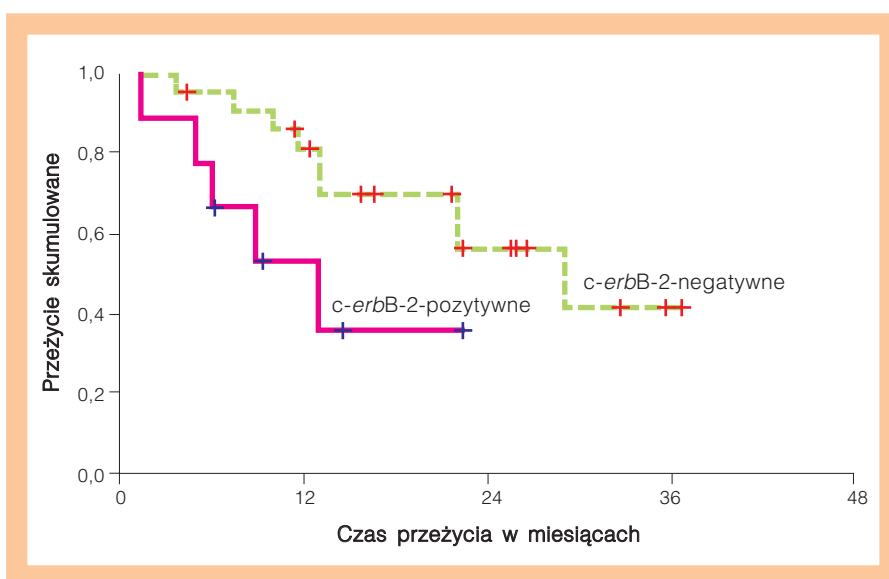
Spośród 30 guzów w III° lub IV° zaawansowania, 10 oceniono jako c-erbB-2-pozytywne. Natomiast żaden z 11 guzów w I° lub II° zaawansowania nie był c-erbB-2-pozytywny ($p=0,04$, test Fishera). Różnice w częstości nadekspresji c-erbB-2 pomiędzy guzami dobrze/umiarkowanie zróżnicowanymi, a guzami nisko zróżnicowanymi nie były statystycznie istotne (odpowiednio: 33 proc. i 19 proc., $p=0,53$). Nadekspresję c-erbB-2 stwierdzano z podobną częstością, niezależnie od obecności lub braku śluzówki Barretta w sąsiedztwie guza pierwotnego (odpowiednio: 23 proc. i 27 proc., $p=0,91$).

W całej badanej grupie (n=39) przeżycie po operacji w zależności od nadekspresji c-erbB-2 nie różniło się istotnie ($p=0,21$, tab. 2.). Z uwagi na fakt, że nadekspresję c-erbB-2 obserwowano wyłącznie w guzach jelitowych lub mieszanych, analizę przeżycia przeprowadzono również w tej podgrupie chorych (n=33). Przeżycie u chorych z guzami c-erbB-2-pozytywnymi było znacznie gorsze niż u chorych z guzami c-erbB-2-negatywnymi ($p=0,049$) (tab. 2., ryc. 2.).

Dwuczynnikową analizę przeżycia przeprowadzono w celu wyodrębnienia czynnika rokowniczego niezależnego od stopnia zaawansowania. W przypadku łącznego rozpatrywania stopnia zaawansowania i klasyfikacji Lauréna, obydwie zmienne były istotnymi, niezależnymi czynnikami rokowniczymi przeżycia (odpowiednio: $p=0,002$ i $p=0,048$). Natomiast kiedy stopień zaawansowania rozpatrywano łącznie z nadekspresją c-erbB-2, jedynie stopień zaawansowania okazał się istotnym czynnikiem rokowniczym (odpowiednio: $p=0,003$ i $p=0,7$).

OMÓWIENIE

Klasyfikacja Lauréna, która została pierwotnie zaproponowana do określenia typu histologicznego raka żołądka, wydaje się być również przydatna dla klasyfikacji gruczolakoraka przełyku i/lub PŻP. W dwóch doniesieniach z ostatnich lat klasyfikację Lauréna zastosowano do raka Barretta, w którym większość guzów sklasyfikowano jako typ jelitowy lub mieszany (odpowiednio: 78 proc. i 97 proc.) [7, 18]. W obecnej pracy wykazano, że podobnie jak w raku żołądka, guzy przełyku i/lub PŻP typu



Ryc. 2. Przeżycie u 33 chorych (wyłącznie guzy typu jelitowego lub mieszanego) w zależności od nadekspresji c-erbB-2 ($p=0,049$; test *log-rank*).

rozlanego cechuje istotnie gorsze rokowanie niż guzy typu jelitowego [3, 21]. Wartość prognostyczna klasyfikacji Lauréna nie jest zwykłym odzwierciedleniem stopnia zróżnicowania (tab. 2.). Ponad połowa guzów typu jelitowego była dobrze/umiarkowanie zróżnicowana, a wszystkie guzy typu rozlanego były zróżnicowane nisko (tab. 1.). Niemniej jednak, nawet w analizie jednoczynnikowej przeżycia, stopień zróżnicowania nie miał żadnej wartości rokowniczej (tab. 2.). Wartość rokownicza klasyfikacji Lauréna była natomiast niezależna od stopnia zaawansowania.

W literaturze przedstawiane są sprzeczne opinie o wartości rokowniczej nadekspresji c-erbB-2 po zastosowaniu leczenia chirurgicznego [7, 8, 18]. W niniejszej pracy nadekspresję c-erbB-2 stwierdzono jedynie w guzach typu jelitowego i w obszarach typu jelitowego guzów mieszanych, podczas gdy guzy rozlane nie wykazywały ekspresji c-erbB-2. Jest to zgodne z obserwacjami poczynionymi w raku żołądka, gdzie nadekspresja c-erbB-2 jest spotykana głównie w guzach typu jelitowego [13-15]. Jest to również zgodne z wynikami badań raka przełyku (Barretta) [7]. Tak więc guzy typu jelitowego i rozlanego różnią się nie tylko morfologicznie i biologicznie (prognostycznie), ale również onkogenetycznie. Wartość prognostyczną c-erbB-2 analizowano nie tylko w całej badanej grupie, ale również w podgrupie guzów typu jelitowego i mieszanego. W tego typu guzach nadekspresja c-erbB-2 miała istotną wartość rokowniczą w jednoczynnikowej analizie przeżycia (tab. 2.). Natomiast w analizie dwuczynnikowej jej wartość rokownicza okazała się zależna od stopnia zaawansowania. Nadekspresja c-erbB-2 pojawia się na późnym etapie progresji gruczolakoraka przełyku i/lub PŻP. Z klinicznego punktu widzenia należy podkreślić, że nadekspresję c-erbB-2 można wskazać w endoskopowej biopsji przedoperacyjnej, podczas gdy stopień zaawansowania (pTNM) określa się rzetelnie jedynie po wykonaniu zabiegu chirurgicznego.

WNIOSKI

- ▶ Klasyfikacja Lauréna jest wartościowym czynnikiem rokowniczym w gruczolakoraku przełyku i/lub PŻP. Guzy typu rozlanego charakteryzują się gorszym rokowaniem niż guzy typu jelitowego. Wartość rokownicza tej klasyfikacji jest niezależna od patologicznego stopnia zaawansowania.
- ▶ Nadekspresja c-erbB-2 jest ograniczona do (obszarów) guzów typu jelitowego, wskazując, że guzy jelitowe i rozlane różnią się nie tylko morfologicznie i rokowniczo, ale również onkogenetycznie.
- ▶ Nadekspresja c-erbB-2 nie ma wartości rokowniczej, z wyjątkiem guzów typu jelitowego i mieszanego, gdzie – pojawiając się na późnym etapie progresji nowotworowej – związana jest ze stopniem zaawansowania.

PIŚMIENNICTWO

1. Blot WJ, Devesa SS, Kneller RW, Fraumeni JF Jr. JAMA 1991; 265: 1287-9.
2. Clark GW, Smyrk TC, Burdiles P, et al. Arch Surg 1994; 129: 609-14.
3. Craanen ME, Dekker W, Blok P, Ferwerda J, Tytgat GNJ. Am J Gastroenterol 1992; 87: 572-9.
4. Duhaylongsod FG, Gottfried MR, Iglehart JD, Vaughn AL, Wolfe WG. Ann Surg 1995; 221: 677-83.
5. Farrow DC, Vaughan TL. Cancer Causes Control 1996; 7: 322-7.
6. Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Belli J, Stemmermann GN. Semin Oncol 1996; 23: 292-306.
7. Flejou JF, Paraf F, Muzeau F, Fekete F, Henin D, Jothy S, Potet F. J Clin Pathol 1994; 47: 23-6.
8. Hardwick RH, Barham CP, Ozua P, Newcomb PV, Savage P, Powell R, Rahamin J, Alderson D. Eur J Surg Oncol 1997; 23: 30-5.
9. Hardwick RH, Shepherd NA, Moorghen M, Newcomb PV, Alderson D. J Clin Pathol 1995; 48: 129-32.
10. Heidl G, Langhans P, Mellin W, Bunte H, Grundmann E. J Cancer Res Clin Oncol 1993; 120: 95-9.
11. Hermanek P, Sobin LH. *International Union Against Cancer (UICC). TNM classification of malignant tumours*. Springer, Berlin, 1992.
12. Hesketh PJ, Clapp RW, Doos WG, Spechler SJ. Cancer 1989; 64: 526-30.
13. Hilton DA, West KP. J Clin Pathol 1992; 45: 454-6.
14. Jaehne J, Urmacher C, Thaler HT, Friedlander-Klar HX, Cordon-Cardo C, Meyer HJ. J Cancer Res Clin Oncol 1992; 118: 474-9.
15. Jain S, Filipe MI, Gullick WJ, Linehan J, Morris RW. Int J Cancer 1991; 48: 668-71.
16. Kulig J, Popiela T, Nowak K, Marecik J, Haxhijaha S. Nowotwory 1984; 34: 267-73.
17. Laurén P. Acta Pathol Microbiol Scand 1965; 64: 31-49.
18. Nakamura T, Nekarda H, Hoelscher AH, Bollschweiler E, Harbeck N, Becker K, Siewert JR. Cancer 1994; 73: 1785-94.
19. Pera M, Cameron AJ, Trastek VF, Carpenter HA, Zinsmeister AR. Gastroenterology 1993; 104: 510-3.
20. Powell J, McConkey CC. Eur J Cancer Prev 1992; 1: 265-9.
21. Setälä LP, Kosma VM, Marin S, Lipponen PK, Eskelinen MJ, Syrjänen KJ, Alhava EM. Br J Cancer 1996; 74: 766-72.
22. Sharpe DA, Moghissi K. Eur J Cardiothorac Surg 1996; 10: 359-64.
23. Singleton TP, Niehans GA, Gu F, Litz CE, Hagen K, Qiu Q, Kiang DT, Strickler JG. Hum Pathol 1992; 23: 1141-50.
24. Steup WH, De Leyn P, Deneffe G, Van Raemdonck D, Coosemans W, Lerut T. J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 111: 85-95.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr hab. n. med. **Wojciech Polkowski**
II Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej
Akademii Medycznej w Lublinie
ul. Staszica 16
20-081 Lublin

Dr hab. W. Polkowski wykonał niniejszą pracę jako stypendysta European Postgraduate Gastro-surgical School w Klinice Chirurgii Akademickiego Centrum Medycznego Uniwersytetu w Amsterdamie.

*Rozszerzony tekst pracy w języku angielskim został opublikowany w *Annals of Surgical Oncology* 1999; 6 (3): 290-7.*