

**Univerzita Karlova v Praze**

**Lékařská fakulta v Hradci Králové**



# **HABILITAČNÍ PRÁCE**

**MUDr. Milan Vošmik, Ph.D.**

**Hradec Králové**

**2020**



**Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

**Habilitační práce**

**Obor: Onkologie**

**Komplexní léčba adenokarcinomů  
gastroesofageální oblasti**

**MUDr. Milan Vošmik, Ph.D.**

**Hradec Králové**

**2020**



## **Prohlášení autora**

---

Prohlašuji tímto, že jsem habilitační práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze své práce v informačním systému Univerzity Karlovy.

V Hradci Králové dne 10. srpna 2020

MUDr. Milan Vošmik, Ph.D.

## Poděkování

---

Rád bych poděkoval všem svým učitelům a spolupracovníkům, kteří se na práci podíleli. Obrovský dík patří Prof. MUDr. Jiřímu Peterovi, Ph.D., který mi v minulosti nabídnul a umožnil pracovat na Klinice onkologie a radioterapie LF UK a FN Hradec Králové a který byl následně mým učitelem, školitelem i cenným konzultantem.

Rád bych poděkoval všem kolegům, minulým i současným, z Kliniky onkologie a radioterapie, a to lékařům i nelékařům, a kolegům z dalších pracovišť LF UK a FN Hradec Králové, kteří se podíleli na diagnostice a léčbě karcinomů jícnu a žaludku. Děkuji zejména Doc. MUDr. Josefu Dvořákovi, Ph.D. a Prof. MUDr. Bohuslavu Melicharovi, Ph.D., kteří stáli u zrodu myšlenky předoperační chemoradioterapie karcinomu žaludku a gastroesofageální junkce a se kterými nadále spolupracuji na dalších projektech, MUDr. Igoru Sirákovi, Ph.D., který je mým cenným spolupracovníkem a kolegou, a Prof. MUDr. Aleši Ryškovi, Ph.D. a Prof. MUDr. Janu Lacovi, Ph.D., kteří v projektu zajišťovali histopatologická hodnocení a bez kterých by nebyla data, které jsme pak zpracovávali.

Zvláštní dík patří mé manželce, RNDr. Haně Vošmikové, která byla také velmi významným členem výzkumného týmu, neboť zajistila molekulárně biologickou analýzu vzorků nádorů, ale také mi, spolu s našimi třemi dětmi Barborou, Matějem a Jáchymem, vytvořila podmínky, abych se mohl vědecké práci věnovat.

Za finanční podporu projektů děkuji:

- Programu PROGRES Q 40/06 a Q 40/11 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR
- Projektu BBMRI-CZ: Biobank network – a versatile platform for the research of the etiopathogenesis of diseases, Evropský fond pro regionální rozvoj - No. EF16 013/0001674
- Lize proti rakovině, Praha

**Použité zkratky:**

AP/PA – předozadní/zadopřední

ACRG – Asian Cancer Research Group

CT – počítačová tomografie

CTV – klinický cílový objem

CTV<sub>insp.</sub> – klinický cílový objem v inspiriu

CTV<sub>exp.</sub> – klinický cílový objem v expiriu

CIN – chromozomálně nestabilní

ČR – Česká republika

DFS – přežití bez známek nemoci

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EBV – virus Epstein-Barrové

EGFR – receptor pro epidermální růstový faktor

EMT – přechod epiteliálních buněk na mezenchymové

FNHK – Fakultní nemocnice Hradec Králové

GS – genomicky stabilní

GTV – objem vlastního nádoru

CHRT - chemoradioterapie

CHT - chemoterapie

GEJ – gastroesofageální junkce

ICRU – Mezinárodní komise pro radiační jednotky a měření (International Commission on Radiation Units and Measurements)

IGRT – radioterapie řízená obrazem

IMRT – radioterapie s modulovanou intenzitou

ITV – vnitřní cílový objem

miRNA – mikro ribonukleová kyselina

MMR – reparace chybného párování (mismatch repair)

MMR<sub>d</sub> – mismatch repair deficientní

mRNA – mediátorová (messenger) ribonukleová kyselina

MSS – mikrosatelitně stabilní

MSI – mikrosatelitně nestabilní

NGS – multiparalelní sekvenování (next generation sequencing)  
NOR – Národní onkologický registr  
OS – celkové přežití  
PET – pozitronová emisní tomografie  
PTV – plánovací cílový objem  
RR – četnost odpovědí  
RT – radioterapie  
RTC – reziduální nádorové buňky  
TIS – tumor in situ  
TCGA – projekt The Cancer Genome Atlas  
UICC – Mezinárodní unie proti rakovině  
VMAT – objemově modulovaná pohybová radioterapie (volumetric arc therapy)  
WHO – Světová zdravotnická organizace  
3D-CRT – trojrozměrná konformní radioterapie  
4DCT – čtyřrozměrná počítačová tomografie



## Obsah

1. Úvod .....	10
2. Anatomická a morfoložická klasifikace .....	11
2.1. Anatomické poznámky ve vztahu k léčbě adenokarcinomů gastroesofageální junkce .....	12
3. Epidemiologie .....	14
3.1. Karcinomy jícnu .....	14
3.2. Karcinomy žaludku .....	14
3.3. Karcinomy gastroesofageální junkce.....	23
4. Aktuální standardy komplexní léčby karcinomů jícnu a žaludku .....	24
4.1. Obecné léčebné přístupy a význam radioterapie.....	24
4.1.1. Léčba adenokarcinomů jícnu.....	25
4.1.2. Léčba adenokarcinomů žaludku .....	25
4.1.3. Léčba adenokarcinomů gastroesofageální junkce .....	28
4.1.4. Zevní radioterapie karcinomu jícnu a žaludku .....	30
4.1.4.1. Techniky radioterapie.....	30
4.1.4.2. Rizika radioterapie .....	33
4.2. Systémová protinádorová léčba karcinomu jícnu a žaludku.....	39
4.2.1. Chemoterapie .....	39
4.2.2. Cílená biologická léčba .....	39
4.2.3. Imunologická léčba .....	40
5. Vývoj kombinované léčby ve FN Hradec Králové .....	41
6. Cíl práce .....	43
7. Metody a materiál .....	44
7.1. Statistická analýza .....	48
8. Výsledky.....	49
8.1. Adjuvantní chemoterapie.....	49
8.2. Poléčebné sledování.....	52
8.3. Přežití.....	53
8.4. Analýza dalších faktorů.....	55
9. Diskuse.....	62
10. Závěr .....	77
11. Literatura.....	78

## 1. Úvod

V léčbě adenokarcinomů distálního jícnu a žaludku přetrvává řada kontroverzních otázek z minulosti a s poznáním molekulárně biologické podstaty nádorových onemocnění velké množství nových kontroverzí přichází. V léčbě lokálně pokročilých karcinomů jícnu a žaludku se postupně prosadily kombinované léčebné přístupy. Pro karcinom jícnu se stala standardem předoperační chemoradioterapie s následným chirurgickým výkonem, pokud je nález operabilní, a pro karcinom žaludku se zejména v Evropě prosazuje perioperační chemoterapie a chirurgie. Přes uvedené kombinované léčebné přístupy nejsou výsledky u lokálně pokročilých nádorů optimistické a velká část nemocných na malignitu přes naši maximální snahu umírá.

Velice sporným tématem je léčba adenokarcinomů gastroesofageální junkce. Tyto nádory zařazovaly velké klinické randomizované studie pro karcinomy jícnu i studie pro karcinomy žaludku, takže na základě výsledků těchto studií dnes můžeme teoreticky léčit tyto nádory jako karcinomy jícnu nebo karcinomy žaludku. Význam této kontroverze navíc roste s novými epidemiologickými daty, která hovoří o rostoucí incidenci adenokarcinomů této přechodové lokality, zatímco incidence „klasických“ karcinomů žaludku nebo karcinomů jícnu klesá.

Předkládaná práce si na základě literárního přehledu i vlastních výsledků klade za cíl pomoci posunout naše uvažování o indikacích kombinovaných léčebných přístupů na základě čistě anatomických a obecných morfologických parametrů onemocnění k prediktorům složitějším, včetně molekulárně biologických faktorů.

## 2. Anatomická a morfologická klasifikace

Anatomická klasifikace nádorů je zdánlivě jednoduchá. U jícnu lze rozlišit tři části: krční jícen, hrudní jícen a břišní jícen, přičemž hrudní jícen je možné rozdělit na horní, střední a dolní třetinu. Na jícen v oblasti kardiie navazuje žaludek, skládající se z fundu, těla, antra a pyloru. Vlastní přechod jícnu a žaludku je v západních zemích anatomicky definován jako proximální okraj slizničních řas žaludku. V tomto místě je také slizniční přechod vrstevnatého dlaždicového epitelu jícnu a jednovrstevného cylindrického epitelu sliznice žaludku (tzv. Z-linie). U tzv. Barretova jícnu dochází k posunu cylindrického epitelu do distálního jícnu (tzv. intestinální metaplázie). Ovšem ani u zdravých jedinců neodpovídá Z linie anatomické definici přechodu jícnu a žaludku, ale je přibližně o 3-11 mm kraniálně (1).

Nádory, vycházející ze sliznice jícnu, zahrnují zejména dvě hlavní histologické diagnózy: dlaždicobuněčné karcinomy a adenokarcinomy. Ostatní nádory jsou poměrně vzácné (gastrointestinální stromální tumory, slizniční melanomy, sarkomy, malobuněčné karcinomy apod.).

Dlaždicobuněčné karcinomy jsou lokalizovány zejména v proximální a střední části jícnu, zatímco adenokarcinomy obvykle postihují jícen distální. Etiologicky se na vzniku dlaždicobuněčných karcinomů podílí zejména alkohol a kouření. Adenokarcinomy distálního jícnu se naopak dávají do souvislosti s obezitou a gastroesofageálním refluxem (a s tím souvisejícím Barretovým jícnem), zatímco vztah k alkoholu a kouření je vyjádřen o něco méně. (2, 3).

Ze sliznice žaludku vycházejí především varianty adenokarcinomu, i když zde mohou být diagnostikovány i další malignity (gastrointestinální stromální tumor, MALT lymfom či méně časté typy karcinomů).

Nejrozšířenější a nejvíce používanou mikroskopickou klasifikací adenokarcinomů žaludku je klasifikace, kterou navrhl Pekka Laurén v roce 1965. Laurénova klasifikace rozděluje adenokarcinomy na dva základní typy (4):

- intestinální typ: buňky jsou dobře diferencované, formují se ve žlázové struktury, častěji se vyskytuje u mužů než u žen a objevuje se častěji u starších pacientů
- difúzní typ: nádorové buňky jsou špatně diferencované a šíří se agresivně stěnou žaludku, časněji metastázuje, objevují se u mladších pacientů a výskyt u mužů a žen je srovnatelný.

Již Pekka Laurén ve své práci upozornil, že difúzní typ je spojen s horší prognózou (4).

Od Laurénovy klasifikace se částečně liší klasifikace Světové zdravotnické organizace (WHO), v aktuálně platném vydání z roku 2019 jsou odlišeny (5):

- tubulární adenokarcinom; nádor vytváří větvící se tubulární struktury, varianty dobře diferencovaný, středně diferencovaný a špatně diferencovaný
- papilární adenokarcinom; nádor roste intraluminálně, nádorové buňky se vzhledem blíží buňkám zdravým.
- mucinózní adenokarcinom; mezi nádorovými buňkami se ve velké míře vyskytuje mucin
- špatně kohezivní karcinom; nádorové buňky infiltrují zdravé tkáně, tento typ odpovídá difúznímu typu podle Lauréna, zahrnuje signet ring cell carcinoma, kdy nádorové buňky připomínají tvarem pečetního prsten, a nespecifický špatně kohezivní karcinom.
- smíšený karcinom; nádor zahrnuje více uvedených typů adenokarcinomu.
- další histologické varianty.

## **2.1. Anatomické poznámky ve vztahu k léčbě adenokarcinomů gastroesofageální junkce**

Protože historicky byla u adenokarcinomů distálního jícnu a žaludku indikována jako primární léčba operace, o terminologickém přiřazení lokality nádoru rozhodoval chirurg v souvislosti s volbou chirurgického přístupu. Dlouhodobě nepříznivé léčebné výsledky samotného chirurgického řešení pro nádor jícnu i žaludku vedly odborníky, podobně jako u řady dalších malignit, k doplnění operace o nechirurgickou onkologickou léčbu, aplikovanou předoperačně nebo pooperačně. S vývojem multimodálních léčebných postupů u obou lokalit tak získávalo správné zařazení karcinomů GEJ k nádorům jícnu nebo nádorům žaludku stále větší význam.

Z hlediska terminologie je zásadní práce Jörga Rüdiger Siewerta, který publikoval v roce 1987, s upřesněním v roce 1996, návrh rozdělení karcinomů GEJ na tři typy (6, 7):

- Typ I: nádory vycházející z distálního jícnu, obvykle z intestinální metaplázie v jícnu (Barretův jícen), může infiltrovat shora vlastní junkci, centrum nádoru se nachází více než 1 cm a do 5cm nad junkcí

- Typ II: nádory vycházející z oblasti vlastní junkce (kardie), nádor je do 1 cm nad a do 2 cm pod junkcí
- Typ III: nádory subkardiální, mohou infiltrovat zespona junkci a distální jícnu, centrum nádoru se nachází více než 2 cm a do 5cm pod junkcí.

Siewert jako chirurg ve své publikaci doporučuje k nádorům GEJ typu I přistupovat jako ke karcinomu jícnu a k nádorům typu II a III pak jako k nádorům žaludku (8).

V rozporu s tímto doporučením je ovšem např. TNM klasifikace zhoubných nádorů, ze které obecně u všech solidních nádorů vycházejí algoritmy pro výběr léčebných postupů. Nejistota, zda nádory GEJ patří mezi malignity jícnu nebo žaludku, se projevila i ve vývoji TNM klasifikace, jak je vidět v porovnání posledních třech vydání. Šesté vydání z roku 2002 (česká verze z roku 2004) zařazuje nádory GEJ jako karcinomy žaludku v souladu s MKN klasifikací pod kódem C16.0 (9). Podle 7. vydání TNM klasifikace měly být všechny karcinomy, jejichž centrum se bylo do 5 cm pod vlastní junkcí a současně prorůstaly do jícnu, klasifikovány jako karcinomy jícnu, a karcinomy, jejichž centrum se nacházelo ve více než 5 cm od junkce nebo byly lokalizovány do 5cm pod junkcí, ale neprorůstaly do jícnu, pak jako karcinomy žaludku (10). Nyní platné 8. vydání TNM klasifikace již zmiňuje klasifikaci Siewertovu, nicméně terminologická klasifikace vzdálenostem použitým v Siewertově klasifikaci neodpovídá. Podle 8. vydání nádory postihující GEJ, jejichž centrum je do 2 cm proximálně od kardie, jsou v klasifikaci pokládány za karcinomy jícnu. Naopak nádory, jejichž centrum je více než 2 cm distálně od GEJ, jsou rozdělovány do stádií podle klasifikace pro nádory žaludku, a to i když je GEJ postižena. Za vlastní nádory GEJ (C16.0) jsou pokládány nádory s centrem do 2 cm proximálně a do 2 cm distálně od anatomické junkce (odpovídá části nádorů typ Siewert I a všem nádorům typ Siewert II), přičemž klasifikace se používá stejná jako pro karcinom jícnu (11).

### 3. Epidemiologie

#### 3.1. Karcinomy jícnu

Podle dat z Národního onkologického registru (NOR) v roce 2016 (poslední uzavřený rok k datu dokončení práce) onemocnělo v České republice zhoubnými nádory jícnu 629 lidí, z toho 516 mužů a 113 žen, což odpovídá relativní incidenci 9,9/100.000 mužů a 2,1/100.000 žen. Nádory jícnu tvoří přibližně 1,0 % mezi všemi malignitami u mužů a 0,2 % u žen. V souvislosti se zhoubným nádorem jícnu v roce 2016\* zemřelo 513 lidí, z toho 412 mužů a 101 žen, což odpovídá relativní mortalitě 7,9/100.000 a 1,9/100.000. Mezi všemi úmrtími na zhoubný nádor představují nádory jícnu u mužů asi 2,7 % a u žen 0,8 %. Incidence i mortalita karcinomu jícnu podle dat NOR v čase roste (obr. 1A, 1C a 1D).

V rámci České republiky je nejvyšší incidence nádorů jícnu ve Zlínském a Moravskoslezském kraji, nejvyšší mortalita je ve Zlínském kraji (obr. 2A a 2B). Z hlediska věkové struktury nemocných je nejvyšší incidence zhoubných nádorů jícnu mezi 60 - 70 lety věku (obr.3A) (12, 13).

#### 3.2. Karcinomy žaludku

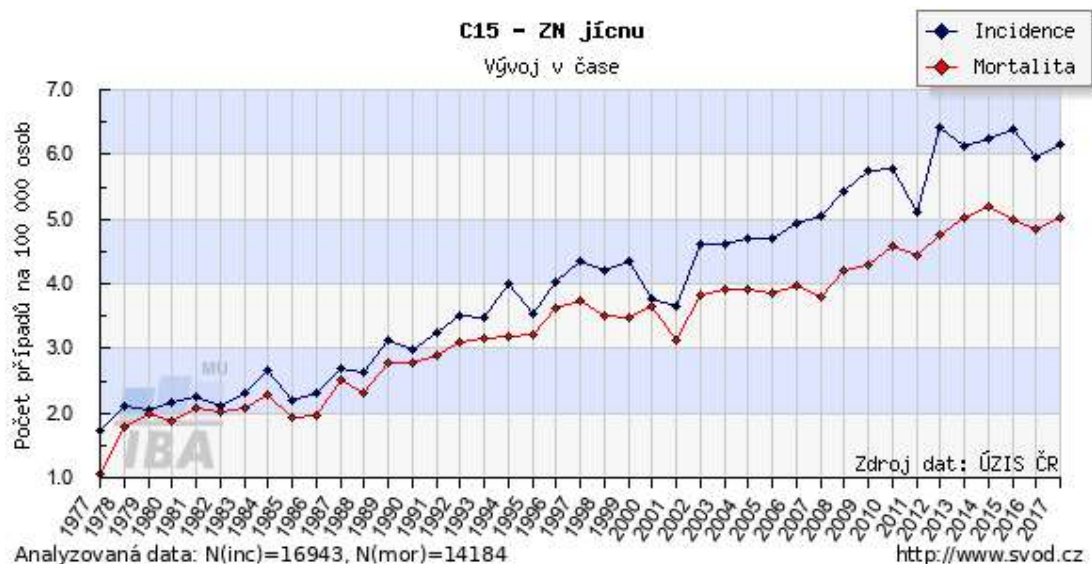
Zhoubné nádory žaludku se v Česku v roce 2016 diagnostikovaly u 1426 847 mužů a 579 žen, což odpovídalo relativní incidenci 16,3/100.000 a 10,8/100.000, resp. Tato diagnóza tvořila mezi všemi zhoubnými nádory u mužů přibližně 1,6 % a u žen 1,2 %. Na zhoubné nádory žaludku zemřelo 1069 lidí, z toho 648 mužů a 421 žen, což odpovídá 12,5/100.000 mužů a 7,8/100.000 žen. Mezi všemi úmrtími na zhoubný nádor tvořily zhoubné nádory žaludku u mužů 3,9 % a u žen 3,2 %. Na rozdíl od karcinomu jícnu, incidence i mortalita karcinomu žaludku podle dat NOR v čase klesá (obr. 1B, 1E a 1F).

Pro nádory žaludku je dlouhodobě nejvyšší incidence v Moravskoslezském kraji, mortalita pak v kraji Moravskoslezském a Olomouckém (obr. 2C a 2D). Z hlediska věkové struktury nemocných je nejvyšší incidence zhoubných nádorů žaludku později než u karcinomu jícnu, a to mezi 70 - 80 lety věku (obr. 3B).

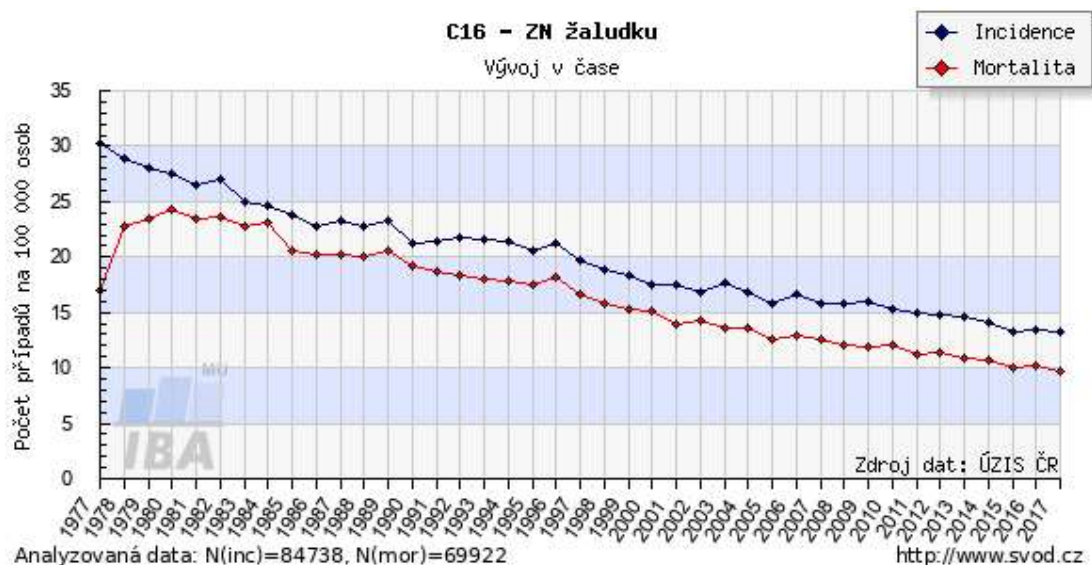
Porovnáme-li výskyt nádorů jícnu a žaludku se zahraničím, pak pro obě skupiny nádorů platí, že incidence těchto nádorů v Česku je ve srovnání se světem i Evropou spíše nízká.

Pokud se podíváme na křivky vývoje incidence a mortality zhoubných nádorů jícnu a žaludku v Česku v čase, pak u nádorů jícnu zaznamenáváme jednoznačný nárůst incidence a mortality,

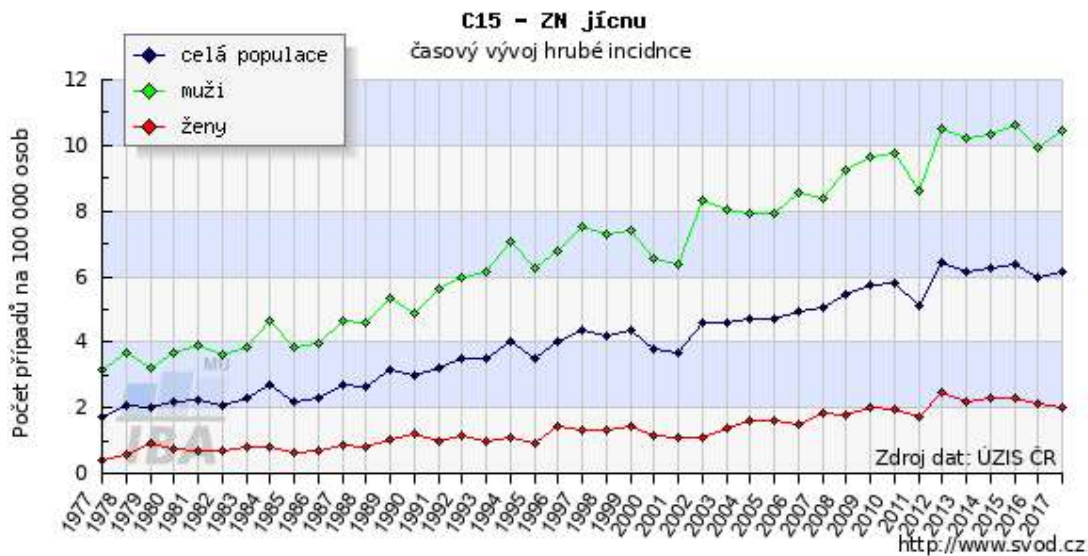
zatímco u nádorů žaludku naopak pokles incidence i mortality. Tyto trendy jsou obdobné u obou pohlaví (12, 13).



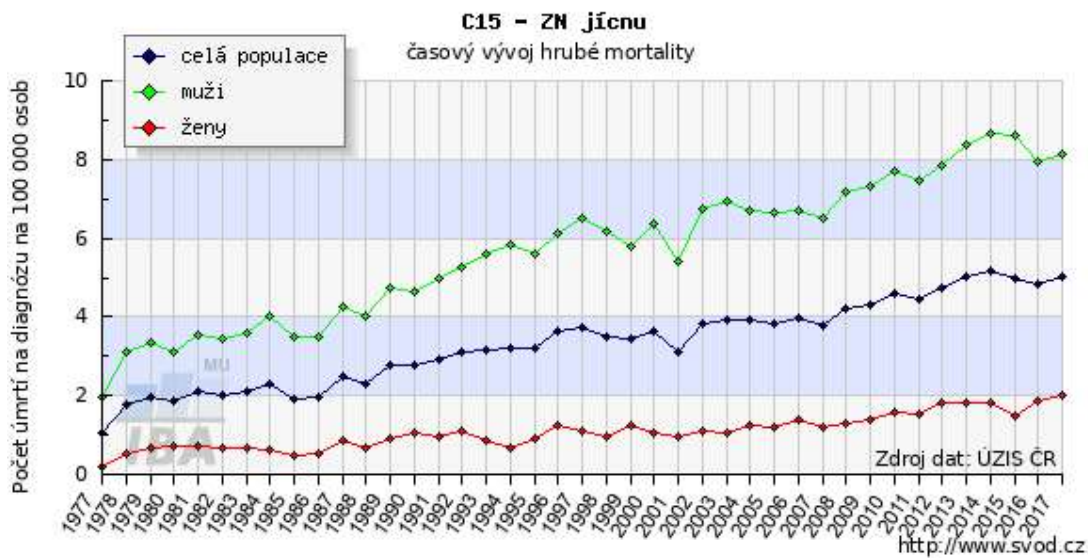
**Obr. 1A. Vývoj incidence a mortality karcinomu jícnu v ČR – celková populace (podle dat z Národního onkologického registru www.svod.cz)**



**Obr. 1B. Vývoj incidence a mortality karcinomu žaludku v ČR – celková populace (podle dat z Národního onkologického registru www.svod.cz)**

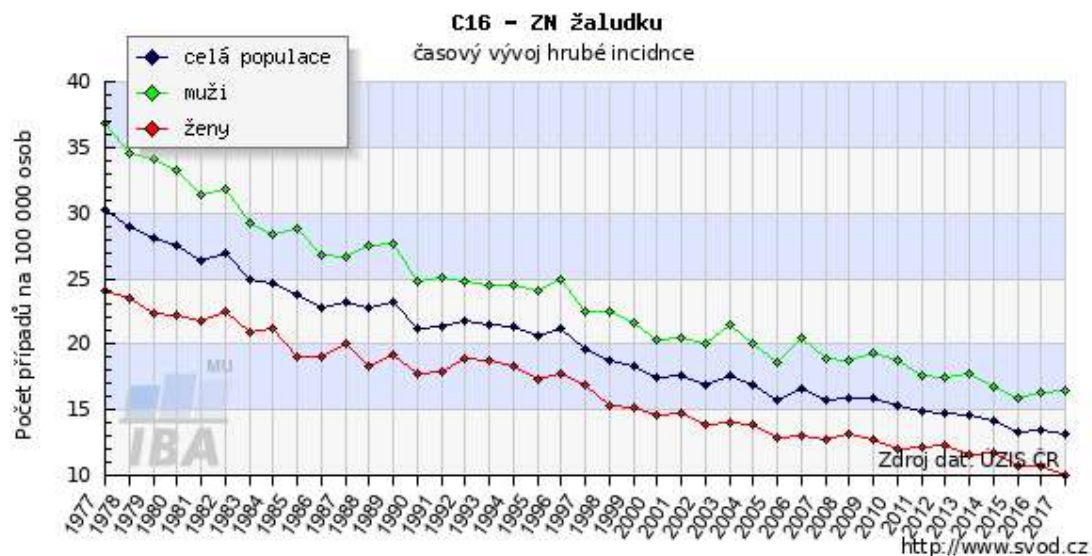


Obr. 1C. Vývoj incidence karcinomu jícnu v ČR podle pohlaví (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))

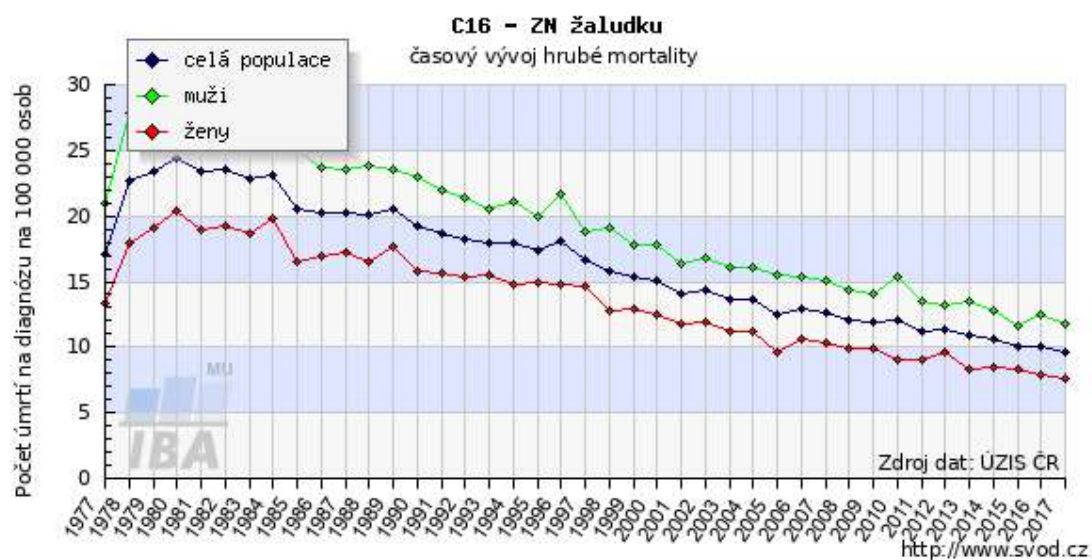


Obr. 1D. Vývoj mortality jícnu v ČR podle pohlaví (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))

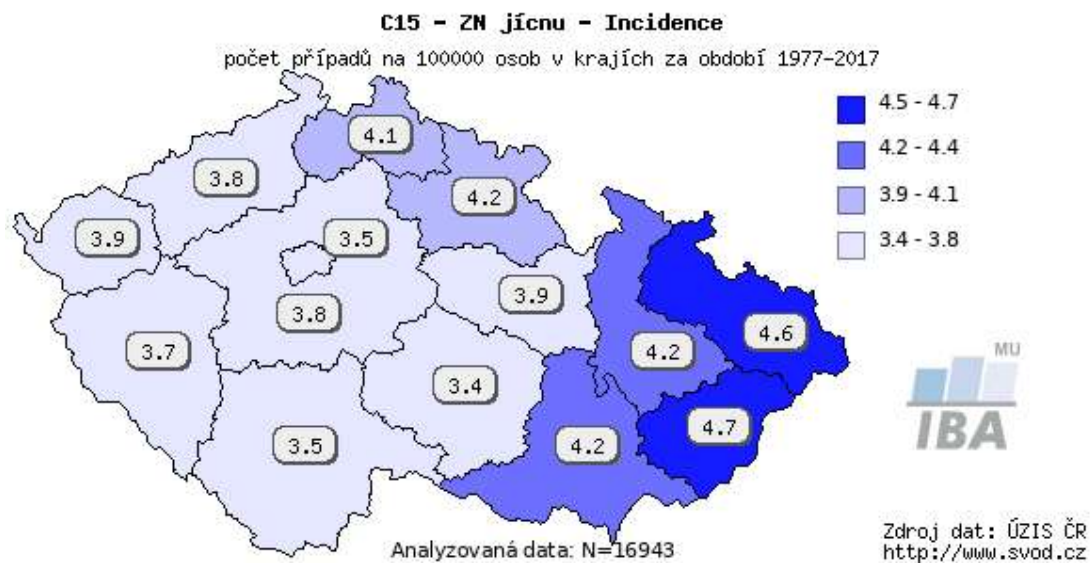




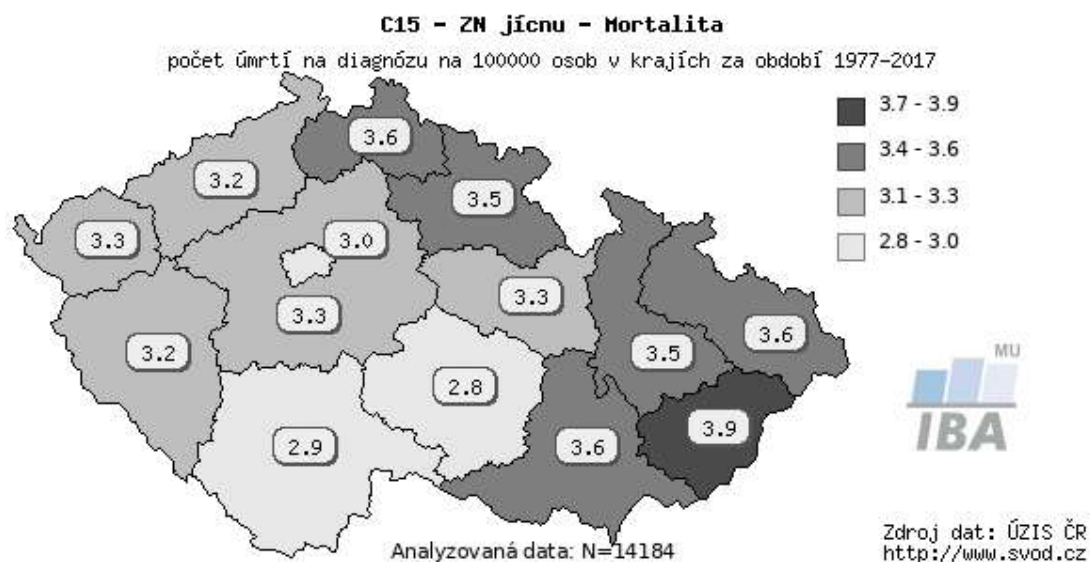
Obr. 1E. Vývoj incidence karcinomu žaludku v ČR podle pohlaví (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))



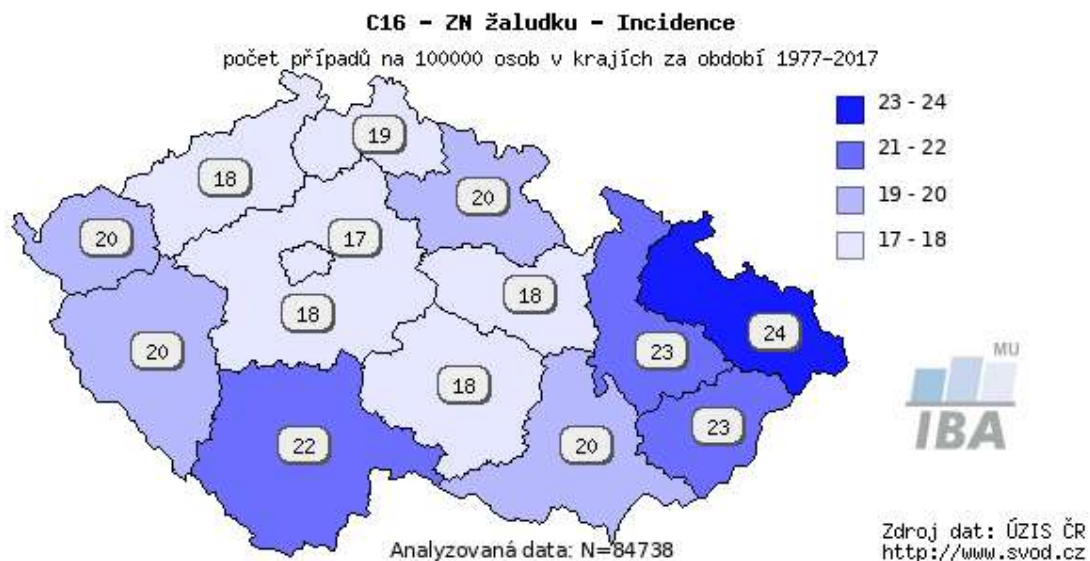
Obr. 1F. Vývoj mortality karcinomu žaludku v ČR podle pohlaví (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))



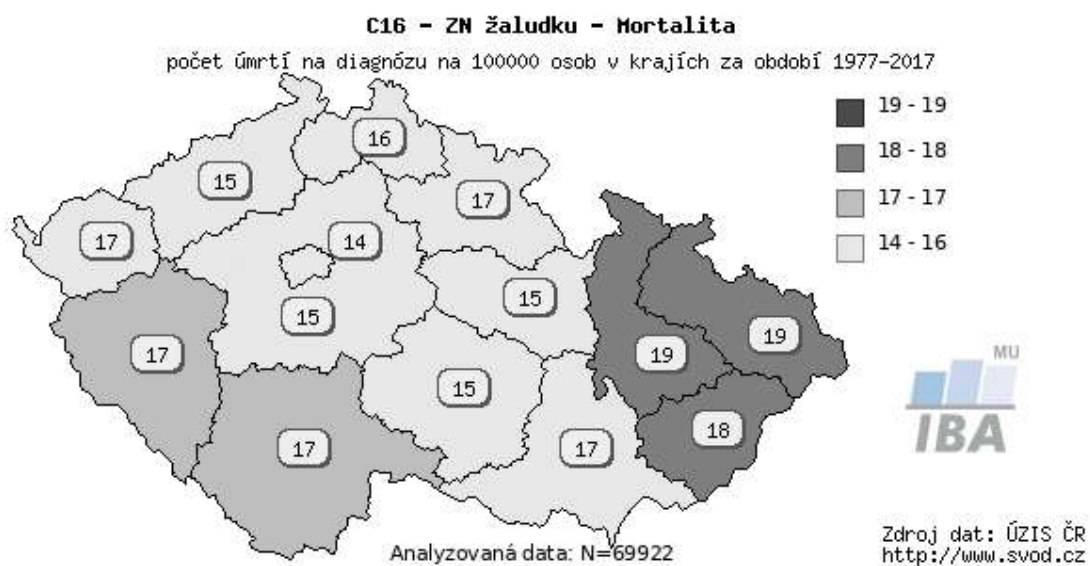
**Obr. 2A. Incidence karcinomu jícnu v jednotlivých krajích ČR (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))**



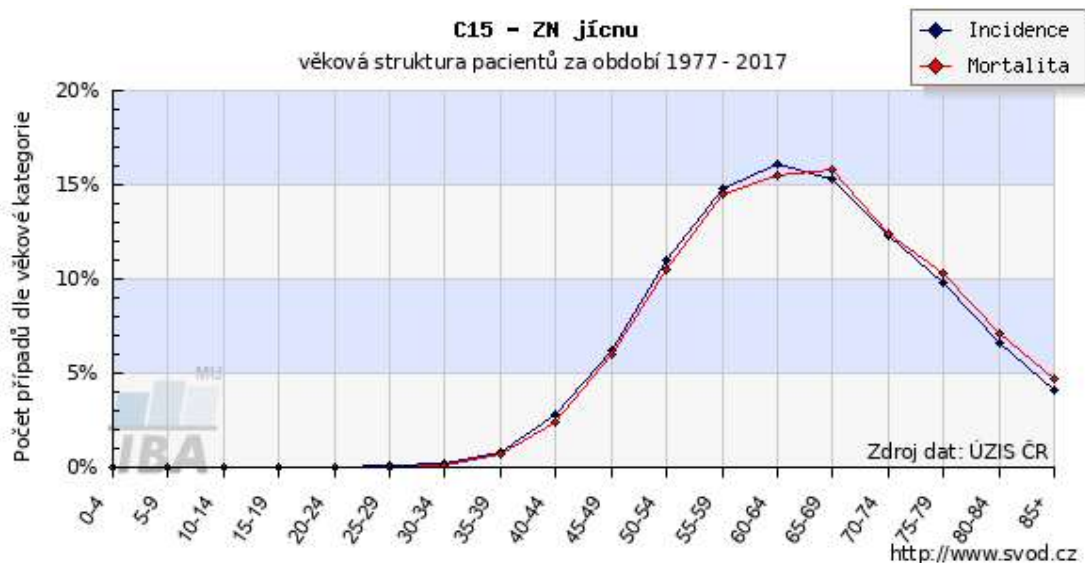
**Obr. 2B. Mortalita karcinomu jícnu v jednotlivých krajích ČR (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))**



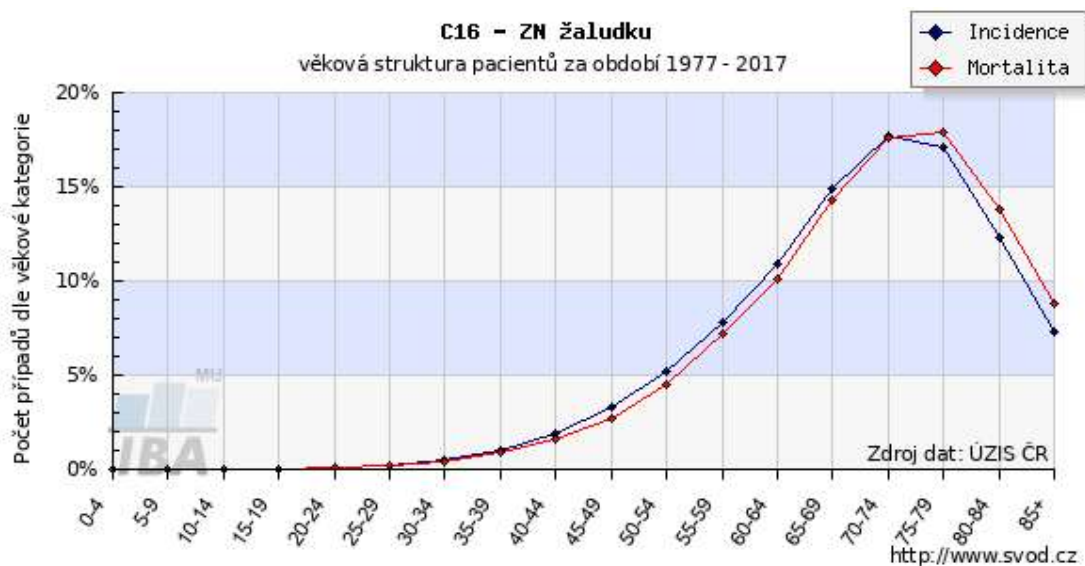
**Obr. 2C. Incidence karcinomu žaludku v jednotlivých krajích ČR (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))**



**Obr. 2D. Mortalita karcinomu žaludku v jednotlivých krajích ČR (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))**



**Obr. 3A.** Věková struktura pacientů s karcinomem jícnu v ČR (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))

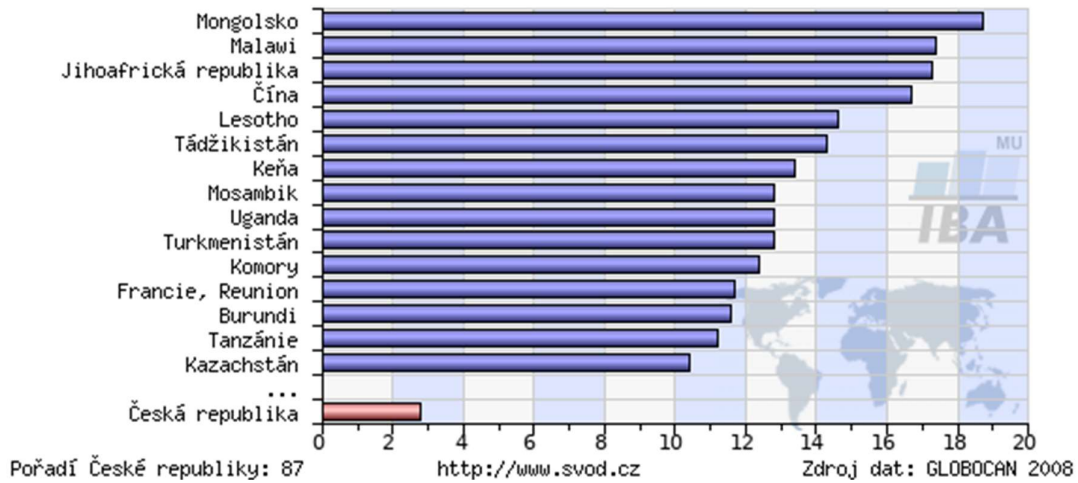


**Obr. 3B.** Věková struktura pacientů s karcinomem žaludku v ČR (podle dat z Národního onkologického registru [www.svod.cz](http://www.svod.cz))



### C15 - Jícen

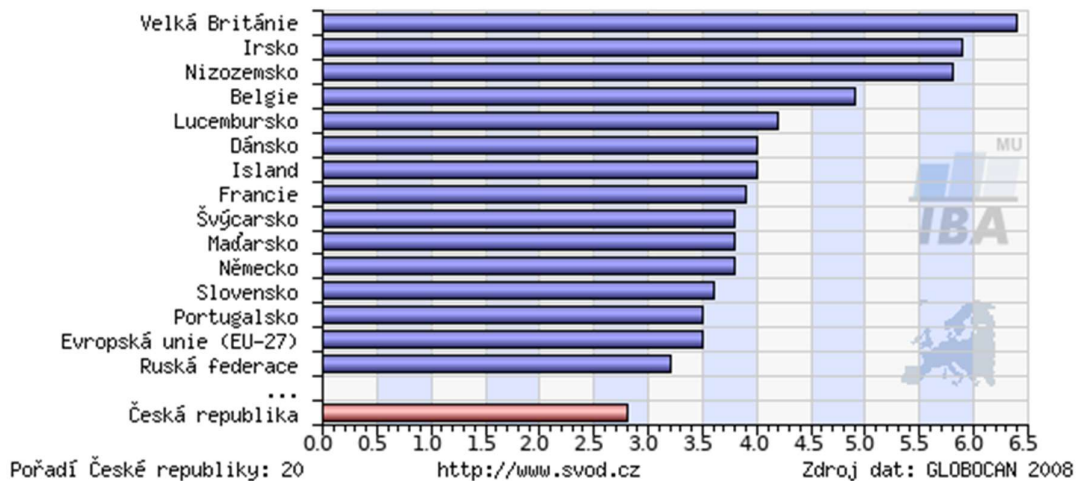
srovnání incidence v ČR s ostatními zeměmi světa, ASR - světový standard



**Obr. 4A. Srovnání incidence karcinomu jícnu v ČR s ostatními zeměmi světa (podle dat database Globocan, převzato z [www.svod.cz](http://www.svod.cz))**

### C15 - Jícen

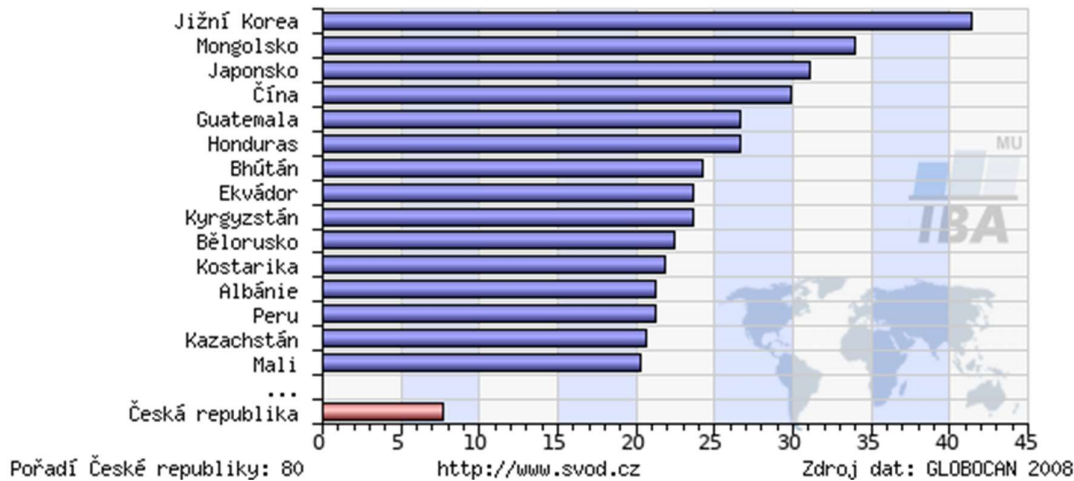
srovnání incidence v ČR s ostatními zeměmi Evropy, ASR - světový standard



**Obr. 4B. Srovnání incidence karcinomu jícnu v ČR s ostatními zeměmi Evropy (podle dat database Globocan, převzato z [www.svod.cz](http://www.svod.cz))**

### C16 - Žaludek

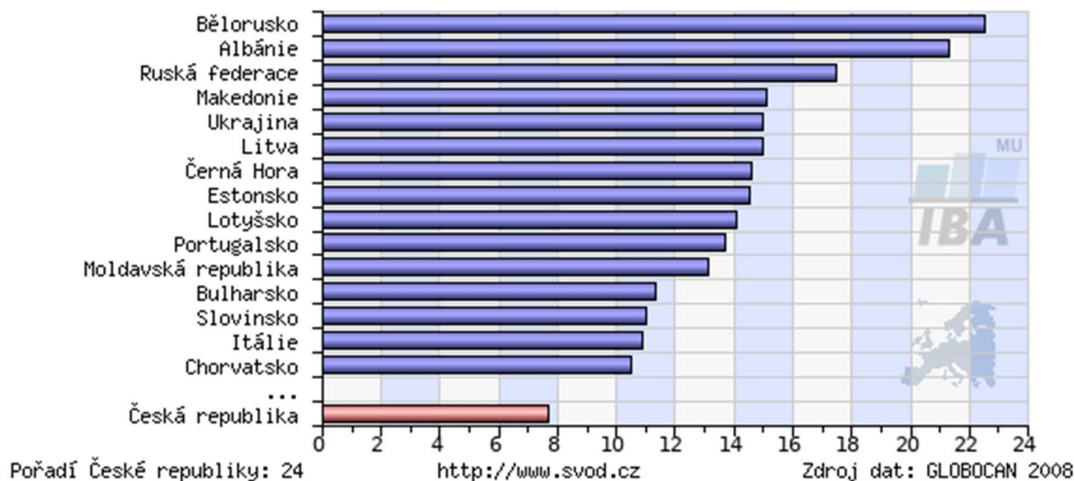
srovnání incidence v ČR s ostatními zeměmi světa, ASR - světový standard



**Obr. 4C. Srovnání incidence karcinomu žaludku v ČR s ostatními zeměmi světa (podle dat database Globocan, převzato z [www.svod.cz](http://www.svod.cz))**

### C16 - Žaludek

srovnání incidence v ČR s ostatními zeměmi Evropy, ASR - světový standard

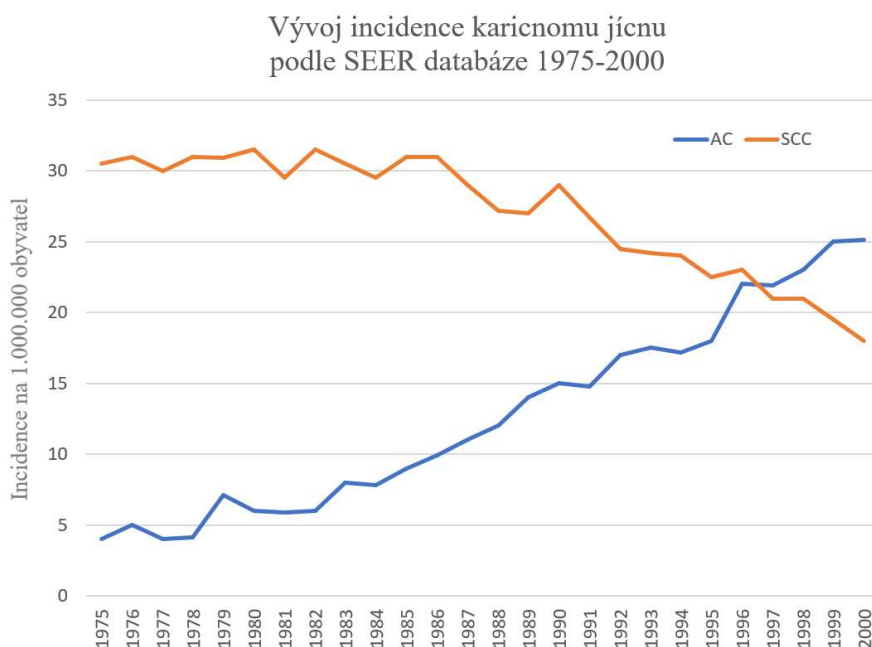


**Obr. 4D. Srovnání incidence karcinomu žaludku v ČR s ostatními zeměmi Evropy (podle dat database Globocan, převzato z [www.svod.cz](http://www.svod.cz))**

### 3.3. Karcinomy gastroesofageální junkce

Ve výše uvedených datech z Národního onkologického registru se skrývají nádory gastroesofageální junkce (GEJ) pod nádory žaludku i jícnu. Nádory typu Siewert 1 jsou jistě klasifikovány jako karcinomy distálního jícnu, nádory typu Siewert 3 budou nejspíše zařazovány jako karcinomy žaludku. Nádory typu Siewert 2 pak mohou přiřazovány k oběma lokalitám, ač by se logicky nejvíce nabízela klasifikace C16.0 (karcinom kardie).

Podle databázových údajů v USA klesá zastoupení skvamózních (dlaždicobuněčných) karcinomů jícnu, ale narůstá počet adenokarcinomů (obr. 5), které se vyskytují zejména v distální části jícnu a v gastroesofageální junkci (14, 15). K překřížení křivek incidence došlo zřejmě díky postupnému poklesu počtu silných kuřáků. Nárůst incidence adenokarcinomů distálního jícnu a junkce může souviset s civilizačními návyky jako přejídání a gastroesofageální reflux. Postupný nárůst incidence karcinomu jícnu v ČR nejspíše také souvisí s nárůstem adenokarcinomu v oblasti distálního jícnu a GEJ.



**Obr. 5. Vývoj incidence dlaždicobuněčného karcinomu a adenokarcinomu jícnu v USA podle databáze Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) National Cancer Institute (vztaženo k věku populace USA v roce 2000). Převzato a upraveno podle Pohl et al. (J Natl Cancer Inst. 2005)**

## 4. Aktuální standardy komplexní léčby karcinomů jícnu a žaludku

### 4.1. Obecné léčebné přístupy a význam radioterapie

Za hlavní léčebné modalitty karcinomů jícnu i žaludku jsou pokládány operační výkon, radioterapie a systémová protinádorová farmakoterapie. Z praktického hlediska můžeme karcinomy jícnu i žaludku rozdělit na časně (T1N0M0), lokálně pokročilé (T2-4 nebo N+) a metastatické (M1) (16, 17).

Samostatný kurativní operační výkon bychom v současné době u karcinomu jícnu či žaludku zvažovali pouze u časných stádií, přičemž u karcinomů in situ (TIS) a stádia T1aN0M0 je možný i přístup endoskopický. Od stádia T2N0M0 by jak u karcinomu jícnu, tak u karcinomu žaludku, měla být zvažována léčba kombinovaná, která zahrnuje kromě operace i léčbu nechirurgickou (chemoterapie +/- radioterapie). U karcinomů jícnu je pokládána za efektivní i definitivní chemoradioterapie bez operačního výkonu, která je indikovaná u nemocných neschopných podstoupit operační výkon z důvodů interních nebo chirurgických (inoperabilita), u pacientů, kde by rozsah výkonu byl mutilující (karcinom krčního jícnu) nebo si případně pacient operační výkon nepřeje (18-24).

V případě inoperabilních nádorů žaludku a metastatických nádorů lokalit jsou léčebné možnosti do značné míry limitovány na paliativní přístupy, které jsou voleny individuálně s cílem úlevy od obtíží (zavedení stentu, paliativní radioterapie apod.) nebo s cílem prodloužení života (paliativní protinádorová systémová léčba). Ve všech stádiích je pak nutné klást důraz na podpůrnou léčbu a při nemožnosti kausální onkologické léčby i léčbu paliativní (18-24).

Z výše uvedeného plyne, že radioterapie se v kurativních indikacích u karcinomů jícnu, GEJ a žaludku prakticky vždy aplikuje v kombinaci s chemoterapií jako konkomitantní chemoradioterapie. Chemoradioterapie jako definitivní léčba přichází v úvahu prakticky pouze u dlaždicobuněčných karcinomů jícnu a je preferována u nádorů v oblasti proximálního jícnu. U lokálně pokročilých adenokarcinomů jícnu, GEJ a žaludku je naopak preferována nechirurgická onkologická léčba v kombinaci s operačním výkonem. V současné době se varianty léčebných postupů pro lokálně pokročilé adenokarcinomy v závislosti na lokalitě rozcházejí.



#### **4.1.1. Léčba adenokarcinomů jícnu**

Historicky je v předoperační indikaci pro karcinomy jícnu používána chemoradioterapie (CHRT). Klinické studie a metaanalýzy potvrdily přínos předoperační chemoradioterapie ve srovnání se samotným chirurgickým výkonem (25-27). Většina z těchto klinických studií ovšem zahrnovala pacienty s oběma základními histologickými typy, dlaždicobuněčnými karcinomy i adenokarcinomy. Jasný přínos předoperační CHRT a chirurgického zákroku ve srovnání se samotným chirurgickým zákrokem u podskupiny pacientů s adenokarcinomem distálního jícnu, včetně GEJ, byl nedávno potvrzen v randomizované studii CROSS, která analyzovala léčebné výsledky pro oba histologické typy zvlášť (28, 29). Tato studie srovnávala předoperační CHRT a chirurgický výkon s chirurgií samotnou u karcinomů jícnu a GEJ. Předoperační CHRT zahrnovala ozáření v dávce 41,4 Gy v 23 frakcích a konkomitantní chemoterapii (CHT) ve složení paklitaxel a karboplatina. Celkově bylo analyzováno 366 pacientů, v obou skupinách bylo zastoupení adenokarcinomů 75 %. Medián celkového přežití v rameni s kombinovanou léčbou byl 48,6 měsíce, v podskupině adenokarcinomů 43,2 měsíce, a v rameni se samotným chirurgickým výkonem 24,0 měsíce, v podskupině adenokarcinomů pak 27,1 měsíce.

#### **4.1.2. Léčba adenokarcinomů žaludku**

Řada studií v Evropě a Severní Americe neprokázala přínos adjuvantní chemoterapie po radikální resekci pokročilého karcinomu žaludku (tab. 1). Naproti tomu v asijských zemích se adjuvantní chemoterapie součástí standardních léčebných přístupů po gastrektomii a D2 lymfadenektomii stala, a to zejména perorální chemoterapie S1 nebo režim XELOX (studie ACTS-GC Group a studie CLASSIC) (38-41).

V Evropě se v posledních letech stala pro pokročilý karcinom žaludku standardním přístupem perioperační chemoterapie, tj. předoperační CHT, po které následuje operace a pooperační chemoterapie, a to na základě výsledků randomizovaných studií MAGIC, FNCLCC/FFCD a FLOT4 (42-44).

Britská studie MAGIC zařadila celkem 503 pacientů s adenokarcinomem žaludku, GEJ nebo distálního jícnu do experimentálního ramene s CHT ve složení epirubicin, cisplatina a 5-fluoruracil nebo kapecitabin (ECF nebo ECX), aplikovanou jako 3 cykly předoperačně a 3 cykly pooperačně, nebo do ramene standardního se samotným chirurgickým výkonem. V rameni s perioperační CHT došlo ke zlepšení celkového přežití (5-leté celkové přežití 36 % proti 23 %;  $p=0.009$ ) (45).

Francouzská studie FNCLCC/FFCD randomizovala 224 pacientů s adenokarcinomem žaludku, GEJ nebo distálního jícnu do ramene s perioperační CHT v kombinaci cisplatina a 5-fluorouracil proti operaci samotné. I v této studii došlo ke zlepšení 5-letého celkového přežití (34 % proti 19 %; p=0,003) (43).

Studie	Ramena	Výsledek
International Collaborative Cancer Group (ICCG) (30)	Observace versus režim FAM (5-fluorouracil, adriamycin, mitomycin C)	Neprokázán benefit
British Stomach Cancer Group (BSCG) (31)	Observace versus režim FAM (5-fluorouracil, adriamycin, mitomycin C)	Neprokázán benefit
Southwest Oncology Group (SWOG) (32)	Observace versus režim FAM (5-fluorouracil, adriamycin, mitomycin C)	Neprokázán benefit
Italian Trials in Medical Oncology (ITMO) (33)	Observace versus režim EAP (etoposid, adriamycin, cisplatina)	Neprokázán benefit
Fédération Francophone de Cancérologie Digestive Group (FFCD 8801) (34)	Observace versus režim PF (5-fluorouracil, cisplatina)	Neprokázán benefit
European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) (35)	Observace versus režim FAMTX (5-fluorouracil, adriamycin, metotrexát)	Neprokázán benefit
International Collaborative Cancer Group (ICCG) (35)	Observace versus režim FEMTX (5-fluorouracil, epirubicin, metotrexát)	Neprokázán benefit
Gruppo Oncologico Italia Meridionale (GOIM 9602) (36)	Observace versus režim ELFE (epirubicin, leukovorin, 5-fluorouracil, etoposid)	Neprokázán benefit
Gruppo Oncologico Italiano di Ricerca Clinica (GOIRC) (37)	Observace versus režim PELF (cisplatina, epirubicin, leukovorin, 5-fluorouracil)	Neprokázán benefit

**Tab. 1: Studie s adjuvantní chemoterapií u pokročilého karcinomu žaludku v Evropě a Severní Americe**

Nedávno publikovaná randomizovaná studie fáze 2/3 FLOT4 porovnávala režim ECF nebo ECX, použitý ve studii MAGIC, s režimem FLOT (kombinace docetaxel, oxaliplatin, 5-fluorouracil a leukovorin). Do této studie bylo zařazeno 716 pacientů a celkové přežití v rameni

FLOT bylo signifikantně delší než rameni ECF/ECX (medián 50 měsíců proti 36 měsíců), a to při srovnatelné toxicitě obou režimů (44). Režim FLOT se tak stal standardem perioperační CHT těchto nádorů.

Přínos CHRT u karcinomu žaludku byl prokázán pouze v pooperační indikaci, a to v randomizované studii SWOG 9008 / INT 0116, do které byli zařazováni také pacienti s karcinomy GEJ. V experimentálním rameni byla pooperačně indikována CHRT - 6 cyklů chemoterapie 5-fluorouracil a leukovorin v bolusovém 5-denním režimu a radioterapie v dávce 45 Gy v 25 frakcích, ve standardním rameni bylo po operaci pouze poléčebné sledování. Pooperační chemoradioterapie byla spojena s prodloužením celkového přežití (medián 36 měsíců proti 27 měsícům,  $p = 0,005$ ) (45, 46).

Zda má cenu kombinovat perioperační CHT s pooperační CHRT testovala evropská studie CRITICS. Pacienti s adenokarcinomy žaludku a GEJ byli randomizováni do standardního ramene s perioperační CHT režimem ECX nebo EOX nebo do experimentálního ramene, ve kterém pacienti podstoupili namísto pooperačních třech cyklů chemoterapie chemoradioterapii s ozáření v dávce 45 Gy v 25 frakcích a konkomitantní chemoterapií, zahrnující kapecitabin a cisplatinu. Studie ovšem neprokázala benefit pooperační CHRT namísto pooperační CHT (47).

Aktuálně nejsou k dispozici žádná data z prospektivních randomizovaných studií s předoperační CHRT u karcinomu žaludku. Efekt předoperační CHRT u karcinomu žaludku byl hodnocen pouze ve studiích fáze I a II s jedním ramenem, včetně multicentrické studie RTOG 9904 (48). Přehled těchto studií je v tabulce 2. Kromě uvedených studií s konkomitantní CHRT byla testována také chemoterapie a radioterapie podávaná v rámci předoperační léčby sekvenčně. Walsh et al prezentoval výsledky léčby 52 hodnotitelných pacientů s karcinomy žaludku, léčených předoperační chemoterapií (2 cykly chemoterapie s cisplatinou a 5-fluorouracilem) a radioterapií (40 Gy v 15 frakcích), a tyto výsledky porovnal s výsledky pacientů léčených pouze operací. Ve skupině pacientů s kombinovanou léčbou byla zaznamenána 25 % kompletní patologická léčebná odpověď a medián přežití byl 16 měsíců proti 11 měsíců u pacientů, léčených pouze chirurgicky (60).

Přínos předoperační CHRT přidané k perioperační chemoterapii proti perioperační chemoterapii bez radioterapie v současné době hodnotí randomizovaná studie fáze III TOPGEAR (61).

Studie	Počet pacientů	Konkomitanti chemoterapie	Dávka RT	pCR
Lowy et al., 2001 (49)	23	5-fluorouracil	45 Gy	11 %
Ajani et al., 2004 (50)	34	cisplatina, leukovorin, 5-fluorouracil	45 Gy	30 %
Klautke et al., 2004 (51)	21	cisplatina, 5-fluorouracil nebo paklitaxel	50,4 Gy	14 %
Ajani et al - RTOG 9904 (48)	43	cisplatina, leukovorin, 5-fluorouracil	45 Gy	26 %
Wydmański et al., 2007 (52)	40	5-fluorouracil +/- leukovorin	45 Gy	17 %
Reed et al., 2008 (53)	149	založená na 5-fluorouracilu	45 Gy	23 %
Rivera et al., 2009 (54)	23	cisplatina, irinotekan	45 Gy	9%
Díaz-González et al., 2011 (55)	61	83 % založená na taxanech	45 Gy	12 %
Chakravarty et al., 2012 (56)	25	68 % oxaliplatina, leukovorin, 5-fluorouracil	45 Gy	20%
Pepek et al., 2013 (57)	48	založená na 5-fluorouracilu	45 Gy	19 %
Rostom et al., 2013 (58)	41	docetaxel, 5-fluorouracil, cisplatina	45 Gy	24 %
Trip et al., 2014 (59)	25	karboplatina, paklitaxel	45 Gy	16 %

**Tab. 2 Přehled studií s předoperační chemoradioterapií u lokálně pokročilého karcinomu žaludku a pravděpodobnost patologické kompletní odpovědi.**

#### **4.1.3. Léčba adenokarcinomů gastroesofageální junktce**

Výše uvedené randomizované studie pro karcinomy jícnu i žaludku často zahrnovaly více lokalit primárního nádoru, jak je patrné z [tabulky 3](#), a všechny zahrnovaly nádory GEJ. Navíc tyto studie nepoužívají jednotnou terminologii a klasifikaci. Na základě těchto studií je proto možné pro lokálně a/nebo regionálně pokročilý adenokarcinom GEJ zvolit jak perioperační chemoterapii a chirurgický zákrok podle aktuálního standardu pro karcinom žaludku, nebo předoperační CHRT a chirurgický zákrok podle standardů pro karcinomy jícnu. Přímé srovnání

obou výše uvedených postupů pro adenokarcinomy GEJ v podobě velké randomizované klinické studie není dosud k dispozici.

Studie	Lokalita primárního nádoru (podle definice v textu publikace)	Zastoupení jednotlivých lokalit ve studii	
CROSS (29)	Jícen, GEJ (nádory postihující kardii)	Proximální jícen Střední jícen Distální jícen GEJ Nezařazeno	2 % 13 % 58 % 24 % 3 %
MAGIC (42)	Distální jícen, GEJ, žaludek	Distální jícen GEJ Žaludek	14 % 12 % 74 %
FNCLCC/FFCD (43)	Distální jícen, GEJ, Žaludek	Distální jícen GEJ Žaludek	11 % 64 % 25 %
FLOT4 (44)	Distální jícen (Siewert I), GEJ (Siewert II-III), žaludek	Siewert I Siewert II-III Žaludek	23 % 33 % 44 %
SWOG 9008/INT 0116 (32)	Žaludek, GEJ (kardie)	Kardie Tělo žaludku Antrum Multicentrický nádor	20 % 24 % 54 % 1 %
CRITICS (47)	Žaludek, GEJ (Siewert II-III)	GEJ Siewert II-III Proximální žaludek Střední žaludek Distální žaludek	17 % 21 % 30 % 32 %

**Tab. 3. Relativní zastoupení lokalit primárního nádoru ve vybraných významných studiích s karcinomy jícnu a žaludku.**

Dosud jedinou randomizovanou klinickou studií fáze III, která se týkala pouze adenokarcinomů GEJ (Siewert I-III) a blíží se tomuto požadavku, je německá studie POET. Tato studie srovnávala předoperační chemoterapii a chirurgický zákrok s předoperační chemoterapií ve stejném režimu, doplněném o konkomitantní CHRT. Ve studii byla porovnávána předoperační CHT (kombinace 5-fluorouracil, leukovorin a cisplatina) s následnou operací proti stejné předoperační chemoterapii, doplněné o radioterapii v dávce 30 Gy v kombinaci s cisplatinou a etoposidem. Tato německá studie byla bohužel předčasně ukončena z důvodu pomalého nábory pacientů (n = 126) (62). Před třemi lety byly publikovány její aktualizované výsledky, které z hlediska přínosu radioterapie je možné pokládat za velmi povzbudivé, byť v analýze přežití nebylo dosaženo hladin statistické významnosti. Třileté a pětileté celkové přežití bylo 26,1 % proti 46,7 % a 24,4 % proti 39,5 % (p= 0,055), resp. Jediným statisticky signifikantním

benefitem byla pravděpodobnost kompletní léčebné odpovědi 1,9 % proti 14,3 % ( $p = 0,03$ ) (63).

Možný benefit CHRT naznačuje i druhá, bohužel ještě menší, randomizovaná studie fáze II, která randomizovala 75 pacientů s adenokarcinomem jícnu nebo GEJ mezi předoperační chemoterapii (cisplatina a 5-fluorouracil) nebo stejnou předoperační chemoterapii v kombinaci s radioterapií (dávka 35 Gy v 15 frakcích). Statisticky významné zvýšení míry kompletní patologické odpovědi (0% vs. 13%;  $p = 0,02$ ), nebylo ovšem pro nízký počet zařazených pacientů následováno statisticky signifikantním zlepšením přežití bez známek progresu nebo celkovým přežitím. Data o přežití byla následující: medián přežití bez známek progresu 14 měsíců proti 26 měsícům ( $p = 0,37$ ), medián celkového přežití 29 měsíců proti 32 měsícům a 5-leté celkové přežití 36 % proti 45 % ( $p = 0,6$ ) (64).

#### **4.1.4. Zevní radioterapie karcinomu jícnu a žaludku**

##### *4.1.4.1. Techniky radioterapie*

Pro vlastní aplikaci radioterapie v současné době existují poměrně jasná doporučení, která jsou dána mezinárodními i národními standardy a doporučeními. V České republice tyto standardy reprezentují Národní radiologické standardy (23). Každé pracoviště radiační onkologie, včetně Kliniky onkologie a radioterapie FN Hradec Králové, má pak zpracované tzv. místní radiologické standardy, které odpovídají standardům národním (65, 66).

V souladu s doporučením International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU) 50 a 62 jsou definovány objemy: gross tumor volume (GTV; nádorový objem), clinical target volume (CTV; klinický cílový objem), planning target volume (PTV; plánovací cílový objem PTV) a případně internal target volume (ITV; interní cílový objem) (67, 68).

GTV je u nádorů jícnu určen rozsahem tumoru s postiženými lymfatickými uzlinami. Klinický cílový objem (CTV) je tvořen objemem GTV s částí okolních orgánů a tkání s možným mikroskopickým šířením (obvyklý lem od okraje nádoru kraniokaudálně je 3-4 cm, radiálně 1 cm). Při postižení krční části jícnu a kraniální hrudní části jícnu zahrnuje CTV elektivně supraklavikulární, infraklavikulární a horní mediastinální uzliny (po úroveň kariny). Při postižení středního hrudního jícnu zahrnuje CTV elektivně mediastinální lymfatické uzliny podle lokalizace tumoru. Při postižení distálního jícnu zahrnuje CTV elektivně lymfatické

uzliny střední a kaudální části mediastina, diafragmatické uzliny a uzliny kolem truncus coeliacus (69-71).

Plánovací cílový objem PTV je určen objemem CTV s lemem zpravidla 0,5-1 cm v závislosti na lokalitě primárního tumoru. Větší kraniokaudální lemy jsou případně použity u tumorů distálního jícnu na základě informací o pohybu z 4D-CT.

Standardní předepsaná dávka při použití definitivní konkomitantní chemoradioterapie je u karcinomu jícnu 50,4 Gy v 28 frakcích v 5,5 týdnech při jednotlivé dávce 1,8 Gy na frakci. Při plánování je možné použít taktiku plánu s jedním objemem CTV (a PTV) nebo plán se dvěma etapami s postupným zmenšením CTV a PTV, což je vhodné zejména při primárně rozsáhlých nádorech, kdy nelze aplikovat předepsanou dávku na celý cílový objem. V takovém případě dochází ke zmenšení CTV (a PTV) po dávce 45 Gy. V případě předoperační chemoradioterapie je doporučena dávka 41,4-50,4 Gy v 4-5,5 týdnech při jednotlivé dávce 1,8 Gy na frakci (23).

Podobně jako u karcinomu jícnu, je u nádorů žaludku GTV určen rozsahem primárního tumoru s postiženými lymfatickými uzlinami. GTV se neurčuje v případě pooperační radioterapie; CTV zahrnuje GTV s kraniokaudálním okrajem 3-4 cm a radiálním okrajem alespoň 1 cm, dále celý žaludek a spádové lymfatické uzliny dle lokalizace primárního nádoru:

- proximální třetina žaludku, fundus, kardie, GEJ: uzliny perigastrické, celiakální, uzliny podél levé gastrické a lienální arterie, uzliny v hilu sleziny a porty hepatis
- střední třetina žaludku, tělo žaludku: uzliny perigastrické, celiakální, uzliny podél levé gastrické a lienální arterie, uzliny v hilu sleziny a porty hepatis, suprapylorické, subpylorické a pankreatoduodenální
- distální třetina žaludku, antrum, pylorus: uzliny perigastrické, celiakální, uzliny podél levé gastrické arterie, uzliny porty hepatis, suprapylorické, subpylorické a pankreatoduodenální (23).

V případě plánovacího 4D-CT zakresluje cílové objemy ve výdechu do CTV<sub>exp.</sub> a cílové struktury v nádechu do CTV<sub>insp.</sub> Sumací obou objemů vznikne ITV. PTV (plánovací cílový objem) je určen objemem CTV s lemem zpravidla 1 cm (v závislosti na lokalitě primárního tumoru a informací o pohybu z 4D-CT) (66).

Standardní předepsaná dávka při předoperační nebo pooperační radioterapii je 45 Gy v 25 frakcích v 5 týdnech, dávka 1,8 Gy na frakci, a to na celý objem PTV (23).

Techniky radioterapie se u karcinomu jícnu i karcinomu žaludku v posledních 15 letech poměrně výrazně proměnily. Zatímco ještě v 90. letech byla standardem konvenční radioterapie, využívající jednoduché techniky ozáření a tvary polí, často s vykrýváním zdravých tkání a orgánů pomocí tzv. litých bloků z těžkých kovů, rozvoj počítačové techniky, dostupnost zobrazovacích vyšetření i rozvoj ozařovací techniky vedl nejdříve k vývoji technik konformní radioterapie a později technik radioterapie s modulovanou intenzitou (IMRT). Konformní radioterapie obecně používá velikosti a tvary polí, které odpovídají tvaru plánovacího cílového objemu z příslušného směru pole, přičemž tvar pole je určen tvarem tzv. mnoholistového kolimátoru. Počítačový plánovací software počítá 3D-dávkovou distribuci, přičemž cílem je homogenně ozářit plánovací cílový objem předepsanou dávkou a současně maximálně šetřit zdravé tkáně a orgány okolo.

Principem IMRT je ozařování z více polí, u kterých není v rámci pole intenzita záření uniformní, ale v jednotlivých pixelech se liší. Rozdíly v intenzitě záření v rámci příslušného pole jsou určovány pohybem lamel mnoholistového kolimátoru během ozáření. Optimalizací rozložení intenzity záření v rámci jednotlivých polí lze dosáhnout pomocí optimalizačního software optimální dávkové distribuce s vyšším šetřením zdravých tkání a orgánů. Výhodou proti 3D-konformní radioterapii je zejména dávková konformita v oblasti konkavit PTV. VMAT (volumetric arc therapy) techniky jsou ještě pokročilejší formou IMRT. Jejich principem je ozařování při současném pohybu hlavičky urychlovače (pohybová terapie). Během VMAT dochází k přeskupování lamel mnoholistového kolimátoru, mění se rychlost pohybu hlavičky kolem pacienta a jeho cílového objemu a může se měnit i dávkový příkon. Všechny tyto pohyby jsou zadané a spočítané plánovacím softwarem. Nevýhodou IMRT a VMAT technik může být ovšem větší objem rizikových orgánů ozářený dávkami nízkými, což může být problém právě u nádorových objemů v oblasti hrudníku.

Jednotlivé techniky zevní radioterapie karcinomu jícnu a karcinomu žaludku jsou dokumentovány na [obrázcích 6-13](#).

Techniky IMRT byly nejdříve využívány zejména pro nádory hlavy a krku a nádory prostaty (72-75), ale postupně se jejich indikace rozšířila na další diagnózy, u kterých bylo potřeba zajistit vysoce konformní ozáření při současném šetření zdravých tkání a orgánů, a to zejména v oblasti konkavit cílového objemu, tedy včetně nádorů jícnu a žaludku.

Aby tyto moderní techniky měly pro pacienta největší přínos ve smyslu přesného ozáření nádorového onemocnění při maximálním šetření zdravých tkání a orgánů, je nutná přesná



definice GTV, správné zakreslení CTV a minimalizace lemu CTV a PTV. Pro přesnou definici GTV je hlavně pro nádory jícnu je v rámci plánování využívána fúze pozitronové emisní tomografie a počítačové tomografie (PET-CT) (obr. 14). Zakreslování CTV se v posledních letech do jisté míry standardizovalo díky publikaci mezinárodních doporučení pro radioterapii nádorů jednotlivých lokalit, včetně nádorů jícnu a žaludku (76-78). K minimalizaci lemu CTV a PTV je vhodné omezit intrafrakční pohyby a interfrakční pohyby. Intrafrakční pohyby je možné snížit stabilní polohou s využitím vhodných a pohodlných fixačních pomůcek a případně limitací fyziologických pohybů pacienta během radioterapie, např. dýchacích pohybů. Dýchací pohyby, zejména pohyb bránice, má velký vliv na pohyby cílových objemů hlavně u nádorů žaludku a GEJ, zatímco u nádorů jícnu je těchto pohybů vliv minimální (71). Rozsah a možný vliv dýchacích pohybů na velikost cílového objemu (internal target volume; ITV) umožňuje určit 4D-CT, které zobrazuje polohu jednotlivých orgánů a objemů v závislosti na fázi dýchacího cyklu. Pokud se CTV vlivem dýchání pohybuje natolik, že by došlo k významnému nárůstu ozáření zdravých tkání, je možné v rámci radioterapie využít tzv. respiratory gatingu, tj. ozařování pouze v určité fázi dechového cyklu, např. pouze v nádechu či ve výdechu.

Pro snížení interfrakčních odchylek, které jsou způsobeny hlavně nepřesností nastavení, jsou využívány zobrazovací metody přímo na lineárních urychlovačích (ortogonální kV zobrazení nebo cone-beam CT). Tyto techniky jsou označovány jako radioterapie řízená obrazem (IGRT; image-guided therapy) (71).

#### 4.1.4.2. Rizika radioterapie

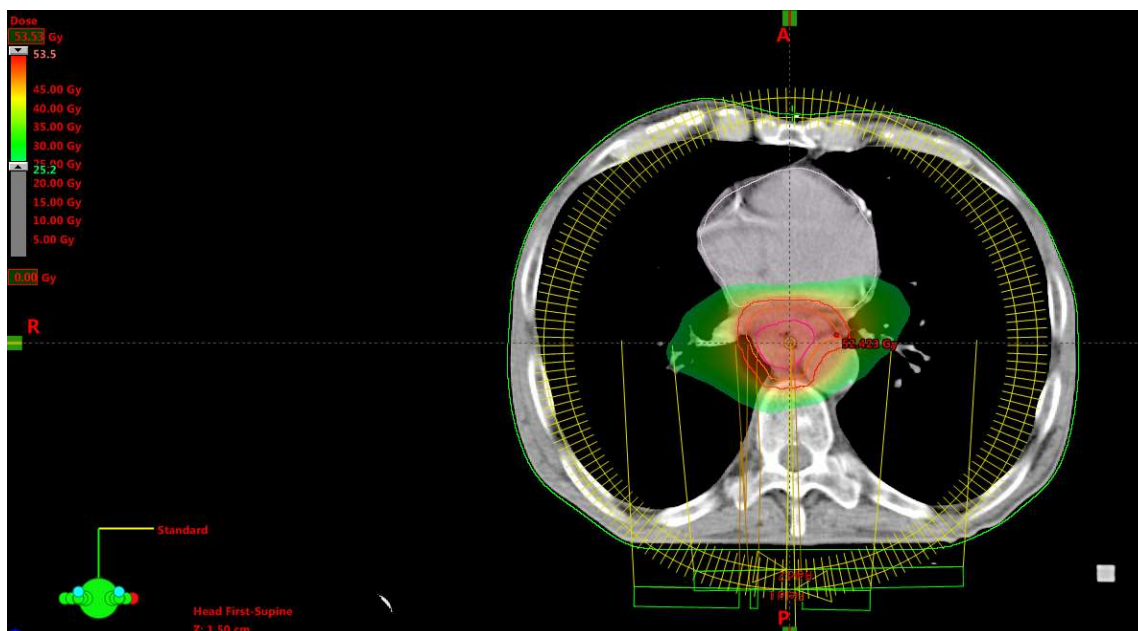
Minimalizace ozáření zdravých tkání a orgánů má velký význam pro kvalitu života. V průběhu radioterapie postupně vznikají v oblast zdravých tkání a orgánů tzv. časné reakce (např. na sliznicích a kůži). Výhodou časných reakcí je, že se relativně dobře a rychle hojí po dokončení radioterapie. Významnějším rizikem z hlediska kvality života bývají reakce pozdní, které se objevují v řádu měsíců po dokončení radioterapie, hojí se obtížně či vůbec a bývají proto označovány jako chronické. Při plánování a aplikaci radioterapie je třeba dodržet v jednotlivých tkáních a orgánech dávky, které nepřesáhnou přijatelnou míru rizika komplikací v těchto tzv. rizikových orgánech. V oblasti hrudníku se jedná zejména o plicní tkáň, srdce, míchu, a v podstatě i o vlastní jícen, který limituje maximální předepsanou dávku. V oblasti nádorů GEJ a žaludku k výše uvedeným rizikovým orgánům patří i játra, ledviny a tenké střevo. Přehled rizikových orgánů s jejich dávkovými limitacemi (tolerančními dávkami) uvádí [tabulka 4](#). Splnění tolerančních dávek u nádorů žaludku při použití moderních plánovacích a ozařovacích

technik je většinou možné. Naproti tomu pro nádory jícnu, zejména při velkém kraniokaudálním postižení jícnu, je při plánování radioterapie hlavním problémem objem ozářených plic, neboť komplikací radioterapie může být pneumonitida a plicní fibróza (79-82).

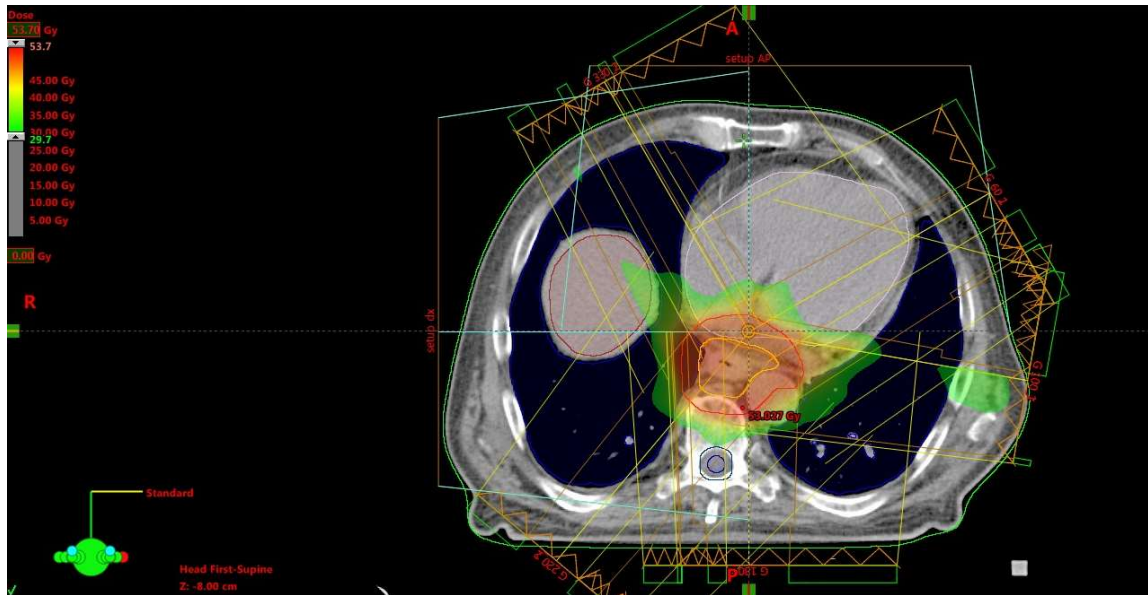
V poslední době se vzhledem k rizikům pozdní kardiotoxicity záření při plánování nádorů jícnu, GEJ i žaludku ovšem soustředíme i na dávky v oblasti srdce (83-87).

Rizikový orgán	Požadavky na dávkové limity
Mícha	$D_{\max} < 50\text{Gy}$ (riziko myelopatie 0,2%)
Srdce	celé srdce $V25 < 10\%$ ; pro riziko perikarditis $D_{\text{mean}} < 26\text{ Gy}$ , $V30 < 46\%$
Plice	$V20 \leq 30\%$ v součtovém histogramu obou plic, $D_{\text{mean}} \leq 20\text{ Gy}$
Játra	$D_{\text{mean}} < 30 - 32\text{ Gy}$ (5% riziko radiation induced liver disease – RILD)
Ledviny	$D_{\text{mean}}$ obě ledviny $< 15-18\text{ Gy}$ (5% riziko klinicky relevantní renální dysfunkce). $V12 < 55\%$ , $V20 < 32\%$ , $V23 < 30\%$ , $V28 < 20\%$

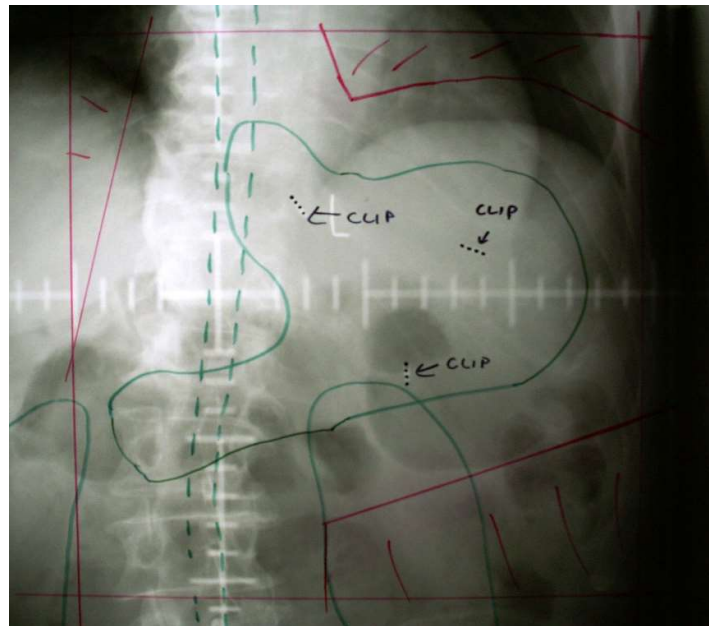
**Tab. 4. Dávkové limity rizikových orgánů podle Národních radiologických standardů (23).** Zkratky:  $D_{\max}$  – maximální dávka;  $D_{\text{mean}}$  střední dávka.



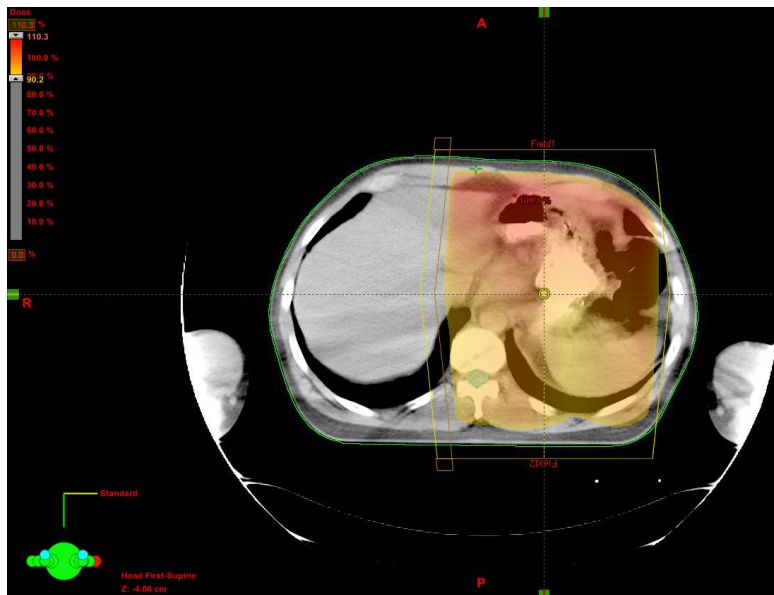
**Obr 6. Volumetric arc therapy (VMAT) v indikaci karcinomu distálního jícnu, technika šetřící srdce. Upraveno podle: Vošmik et al. Rep Pract Oncol Radiother, 2020 (87).**



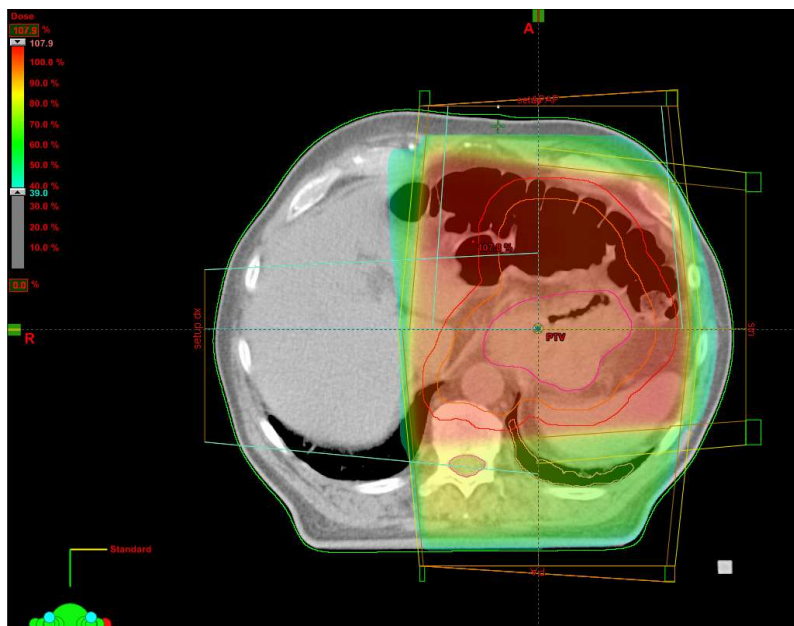
**Obr. 7. Radioterapie s modulovanou intenzitou (IMRT) v indikaci karcinomu distálního jícnu, technika šetřící srdce.**



**Obr. 8. Historické plánování předoperační chemoradioterapie u karcinomu žaludku technikou dvou AP/PA polí – AP snímek z konvenčního simulátoru. Zeleně jsou zakresleny žaludek a ledviny, zeleně přerušovaně mícha, černě jsou endoskopicky zavedené klipy označující nádor na sliznici v žaludku, červeně je ozařovací pole a šrafovaně lité vykrývací bloky (technika historicky používaná ve FN Hradec Králové).**

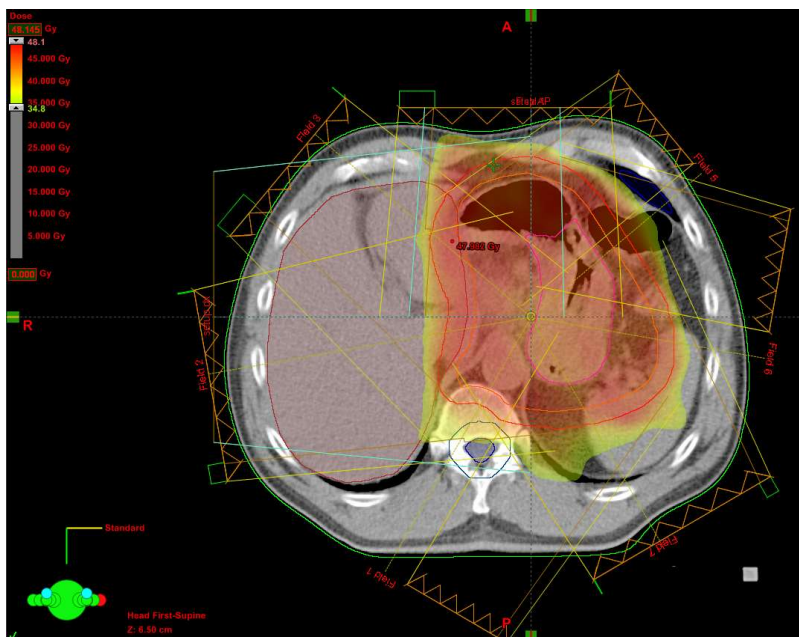


Obr. 9. Zobrazení dávkové distribuce u techniky konvenční radioterapie v předoperační indikaci u karcinomu žaludku s použitím AP/PA pole s přetížím 1,5:1 a litými bloky na oblast zdravých tkání a rizikových orgánů (technika historicky používaná ve FN Hradec Králové)

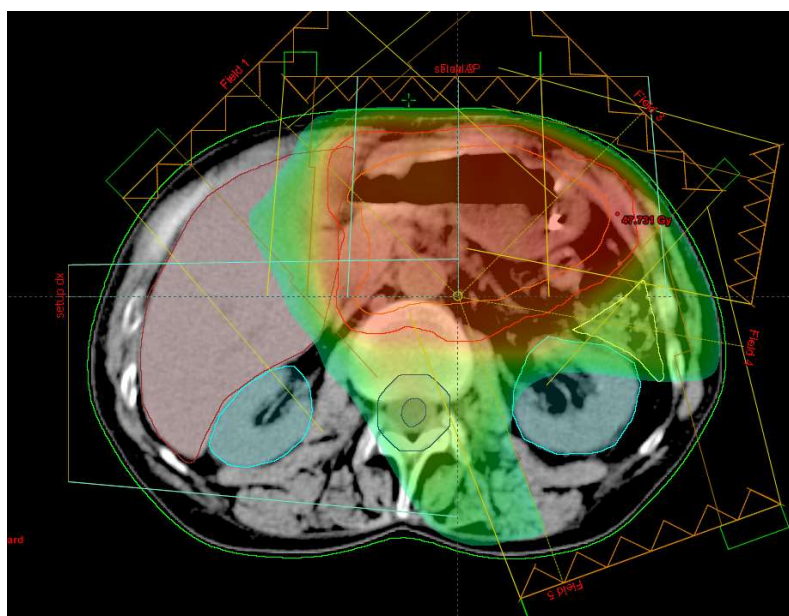


Obr. 10. Zobrazení dávkové distribuce u techniky 3D- konformní radioterapie v předoperační indikaci u karcinomu žaludku s použitím 3 polí a mnoholistového kolimátoru (technika dříve používaná ve FN Hradec Králové)

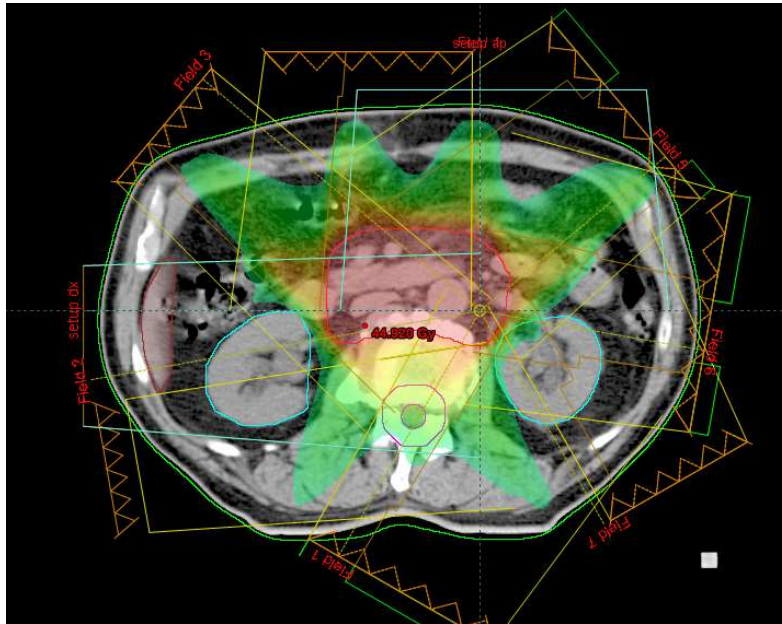




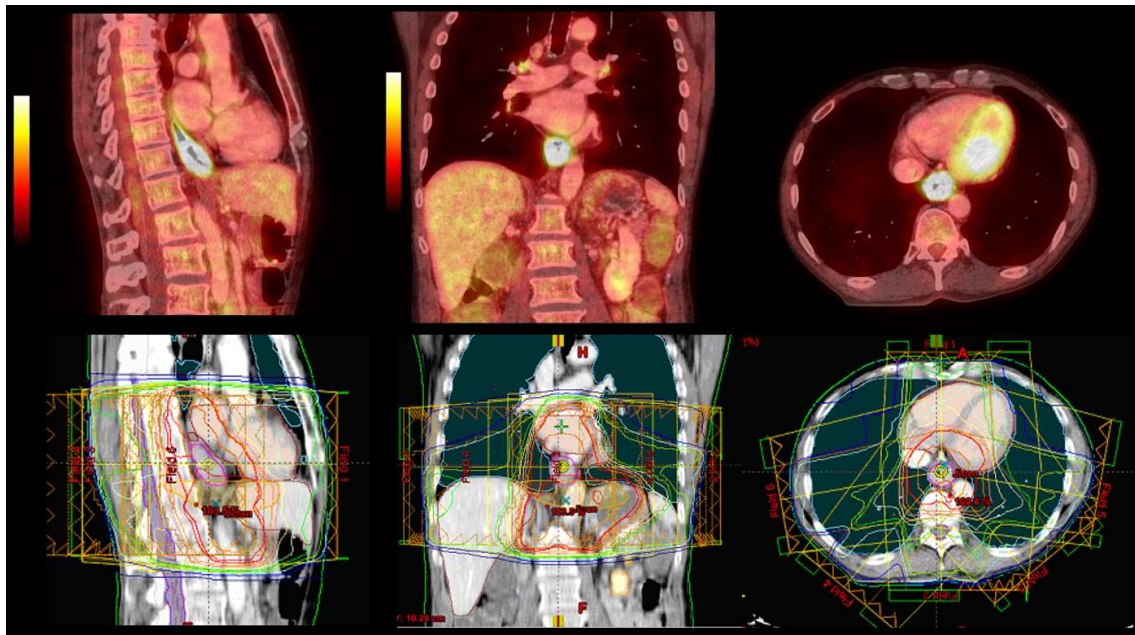
**Obr. 11. Zobrazení dávkové distribuce u techniky radioterapie s modulovanou intenzitou v předoperační indikaci u karcinomu žaludku (FN Hradec Králové)**



**Obr. 12. Zobrazení dávkové distribuce u techniky radioterapie s modulovanou intenzitou v předoperační indikaci u karcinomu žaludku, dokumentující šetření ledvin (FN Hradec Králové)**



Obr. 13. Zobrazení dávkové distribuce u techniky radioterapie s modulovanou intenzitou v předoperační indikaci u karcinomu žaludku, dokumentující šetření ledvin (FN Hradec Králové)



Obr. 14. Využití PET/CT při plánování radioterapie karcinomu distálního jícnu: v horní části obrázku sagitální, frontální a transversální řez PET vyšetření v plánovací poloze, v dolní části stejné řezy se zakreslenými cílovými objemy, rizikovými orgány a dávkovou distribucí. Upraveno podle: Vošmik et al. *World J Gastroenterol.* 2010 (71)

## 4.2. Systémová protinádorová léčba karcinomu jícnu a žaludku

### 4.2.1. Chemoterapie

Historicky jsou hlavními protinádorovými léčivy cytostatika. Jejich efektivita byla prokazována zejména v paliativních indikacích u rekurentních a metastatických onemocnění. U dlaždicobuněčných karcinomů se, podobně jako v jiných lokalizacích, potvrdila protinádorová účinnost u platinových derivátů (zejména cisplatiny) a 5-fluorouracilu, později i u taxanů. U adenokarcinomů distálního jícnu, GEJ a žaludku pak kromě uvedených navíc ještě antracyklinů, mitomycinu C, irinotekanu a dalších. Zmíněná cytostatika byla testována v neoadjuvantní a/nebo adjuvantní indikaci nebo v kombinaci s radioterapií a řada z nich je v současné době součástí standardních kurativních (viz kapitola 4.1.1. a 4.1.2.) i paliativních přístupů u těchto diagnóz (18-22, 88).

### 4.2.2. Cílená biologická léčba

V uplynulých letech se kromě cytostatik testovaly, podobně jakou u jiných malignit, i léčiva z kategorie cílené biologické léčby a imunologické léčby. Tyto léky se zatím ovšem prosazují poměrně pomalu a pouze v paliativní indikaci. Prvním cíleným lékem, který prokázal účinnost u adenokarcinomu GEJ a žaludku byl trastuzumab, rekombinantní humanizovaná IgG1 protilátka proti receptoru HER2. Ve studii TOGA byla porovnáována kombinace chemoterapie cisplatina a 5-fluorouracil proti stejné chemoterapii doplněné o trastuzumab u pacientů s adenokarcinomy s overexpresí HER2 nebo amplifikací genu HER2/Neu. Kombinace s trastuzumabem prokázala delší medián celkového přežití (13,8 měsíce proti 11,1 měsíce;  $p = 0,0046$ ) (89). Tato možnost se tedy týká pouze menšího počtu pacientů. Ve studii TOGA byla HER2 pozitivita prokázána u 21 % testovaných karcinomů žaludku a u 32 % karcinomů GEJ. Při porovnání podle histologického subtypu, HER2 pozitivita byla zaznamenána u 32 % karcinomů s intestinálním subtypem a pouze 6 % pacientů s difúzním subtypem podle Lauréna (90).

Druhým užívaným lékem v indikaci adenokarcinomu jícnu a žaludku je ramucirumab, lidská IgG1 protilátka, která se specificky váže na receptor 2. typu pro vaskulární endoteliální růstový faktor. Ramucirumab prokázal účinnost a stal se součástí algoritmů paliativní systémové léčby po selhání chemoterapie s platinovými deriváty a fluoropyrimidiny samostatně na základě výsledků studie REGARD (91), nebo v kombinaci s paklitaxelem na základě výsledků studie RAINBOW (92).

### 4.2.3. *Imunologická léčba*

Obrovský posun v léčebných standardech, ke kterému došlo u některých malignit s příchodem moderní imunoterapie, založené na blokadě komunikace mezi nádorovými buňkami a buňkami imunitního systému (tzv. imunologické check-point inhibitory), povzbudil výzkum i u nádorů jícnu a žaludku. Data z výsledků klinických studií Keynote-059, Keynote-180 či Check-Mate 032 jsou velmi nadějná (93-95).

Zřejmě dosud největší byla randomizovaná studie fáze 3, Keynote-181, ve které bylo randomizováno 628 pacientů s pokročilým/metastatickým karcinomem jícnu (dlaždicobuněčným nebo adenokarcinomem), včetně Siewert typ I GEJ, po selhání standardní první linie paliativní chemoterapie. Pacienti byli ve druhé linii léčení paklitaxelem, docetaxelem nebo irinotekanem ve standardním rameni, v experimentálním rameni pak pembrolizumabem. V celkové populaci nedošlo k zlepšení přežití pacientů, ale u pacientů s PD-L1 expresí CPS (combined positive score)  $\geq 10$  došlo ke statisticky významnému prodloužení přežití, přičemž 1-leté přežití bylo 43 % proti 20 % ve standardním rameni a medián celkového přežití dosáhl 9,3 měsíce proti 6,7 měsíce ( $p = 0,0074$ ) (96). Výsledky zatím bohužel nebyly publikovány in extenso.

Podobně jako pro trastuzumab i pro indikaci imunoterapie budou hrát roli zřejmě molekulárně-biologické prediktory, jako je již zmíněná PD-L1 exprese nebo status mikrosatelitní instability (MSI). Právě MSI status bude mít zřejmě hlavní význam při indikaci imunoterapie u kolorektálního karcinomu, nicméně jako prediktor může mít význam i u dalších nádorů nejen gastrointestinálního traktu. V práci Le et al. byla po léčbě 5 pacientů s mismatch repair deficientními (MMRd; neboli MSI high) gastroesofageálními nádory pembrolizumabem zaznamenána kompletní léčebná odpověď u třech z nich (60%) (97).



## 5. Vývoj kombinované léčby ve FN Hradec Králové

Podobně jako ve vyspělých zemích Evropy i světa, se ve FN Hradec Králové stala chemoradioterapie standardem v léčbě karcinomů jícnu v předoperační i samostatné indikaci od devadesátých let. V kurativní indikaci byly sice používány dávky radioterapie vyšší než je aktuální standard, ale v předoperační indikaci, zejména u nádorů distálního jícnu byla obvykle předepsaná dávka 50,4 Gy. Jako konkomitantní chemoterapie byl nejčastěji indikován 5-fluorouracil, často v kombinaci s cisplatinou.

Naproti tomu nejvhodnější léčebná strategie u pokročilého karcinomu žaludku byla a dosud je o mnoho méně jasná. Ještě v době, než byly do celosvětových standardů léčebné péče zahrnuty režimy s perioperační chemoterapií nebo pooperační chemoradioterapií, byla kvůli obecně nepříznivým léčebným výsledkům po samotném chirurgickém výkonu do léčby na konci 90. let zahrnuta předoperační CHRT. Výsledky z této doby pro pacienty s karcinomem žaludku byly publikovány dříve (98, 99). První soubor zahrnoval časné výsledky u 16 pacientů léčených v letech 1999-2001 (98). Techniky i dávky radioterapie se odlišovaly od později užívaných. Pacienti byli léčeni konvenční radioterapií AP/PA do přeepsané dávky 30 Gy v 15 frakcích ve 3 týdnech a konkomitantně byla aplikována chemoterapie ve složení 5-fluorouracil (kontinuální infúze 200 mg/m<sup>2</sup>) a cisplatina (jednou týdně 25 mg/m<sup>2</sup>), u části pacientů navíc paklitaxel (8 pacientů), leukovorin (7 pacientů) a/nebo ultrazvuková hypertermie (5 pacientů). Druhý soubor, čítající 32 pacientů, zahrnoval i pacienty, u kterých byla navýšena dávka předoperační chemoterapie na 40 Gy v 20 frakcích ve 4 týdnech, režimy konkomitantní chemoterapie byly obdobné (99).

Po zveřejnění výsledků randomizované studie fáze III INT 0116 (45) se standard léčebné péče u lokálně pokročilých karcinomů žaludku posunul od samotného chirurgického výkonu ke kombinované léčbě, nicméně ve směru primárního chirurgického výkonu s následnou pooperační chemoradioterapií. Na základě vlastních léčebných výsledků, zaznamenaných léčebných odpovědích a počtu R0 resekcí, i na základě výsledků studií fáze II s předoperační chemoradioterapií jsme pokládali za vhodnější pokračovat v režimu předoperační chemoradioterapie, přičemž dávka byla postupně navýšena na 45 Gy v 25 frakcích v 5 týdnech, a po operačním výkonu byla přidána adjuvantní chemoterapie v kombinaci 5-fluorouracil a leukovorin (9 cyklů podle de Gramonta). Režim bolusový, užívaný ve studii INT 0116, byl, byl u jiné malignity (kolorektální karcinom), opuštěn pro vyšší účinnost a nižší hematologickou toxicitu ve prospěch režimu s kontinuální infúzí 5-fluorouracilu (100).

Režim předoperační chemoradioterapie v indikaci karcinomu žaludku byl na našem pracovišti opuštěn až s obecnou akceptací perioperační chemoterapie jako standardu léčby karcinomu žaludku. Výjimku aktuálně tvoří indikace u starších či polymorbidních pacientů, kteří nejsou schopni perioperační chemoterapie, neboť režim předoperační chemoradioterapie je ve srovnání s perioperační chemoterapií obecně lépe tolerován. Druhou výjimku tvoří pacienti, kteří jsou zařazováni do mezinárodní multicentrické randomizované klinické studie fáze III TOPGEAR, která v experimentálním rameni ověřuje přínos předoperační chemoradioterapie.

Vzhledem k obdobnému léčebnému přístupu ve využití předoperační chemoradioterapie pro adenokarcinomy jícnu i žaludku je logické, že předoperační chemoradioterapií byly léčeny všechny karcinomy gastroesofageální junkce, a to i v rozsahu podle Siewerta. Konkomitantní chemoterapie byla používána obdobná, rozdíl mohl být pouze v předepsané dávce. U nádorů odpovídající typu Siewert I byla dávka 50,4 Gy, u nádorů typu Siewert III pak spíše 40-45 Gy. U nádorů typu Siewert II pak záleželo na velikosti primárního tumoru a jeho šíření. Tato fakta nás přivedla k otázce, jak si stojí výsledky léčby adenokarcinomů vlastní GEJ ve srovnání s adenokarcinomy distálního jícnu a žaludku a jaké faktory ovlivňují výsledky léčby těchto nádorů.

## **6. Cíl práce**

Data poměrně velkého počtu pacientů s pokročilými adenokarcinomy distálního jícnu, GEJ a žaludku, kteří byli léčeni na Klinice onkologie a radioterapie LF UK a FN Hradec Králové, a téměř shodný léčebný přístup v podobě předoperační chemoradioterapie, nabízela porovnat výsledky léčby nádorů jednotlivých zmíněných lokalit.

Cílem této práce byla analýza léčebné odpovědi (RR), přežití bez známek onemocnění (DFS) a celkového přežití (OS) u pacientů s lokálně pokročilými adenokarcinomy distálního jícnu, GEJ a žaludku celkově a podle lokality primárního nádoru.

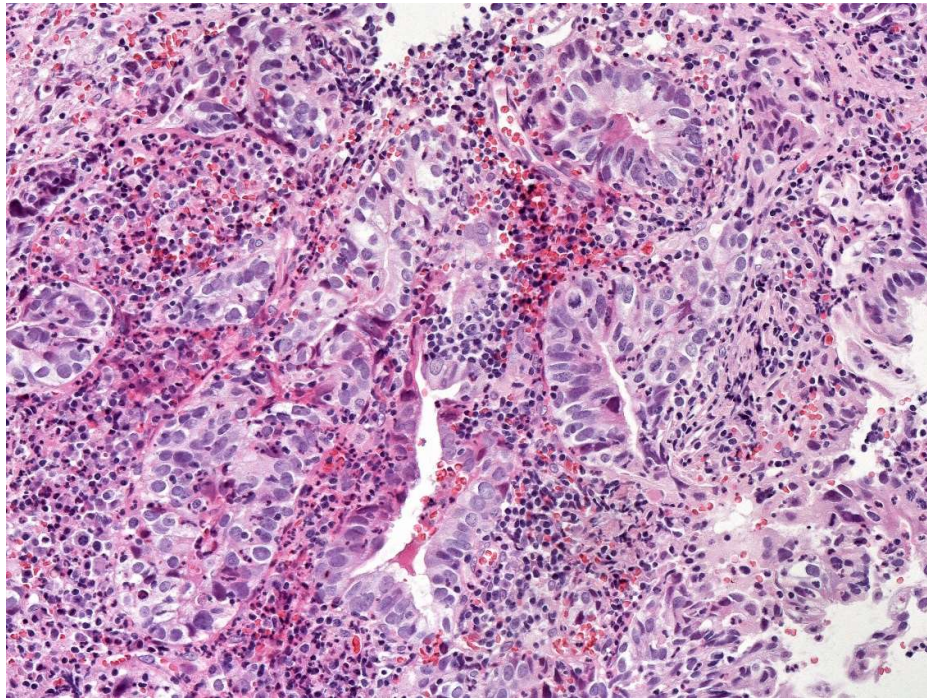
Druhým cílem byla analýza vlivu dalších možných prognostických faktorů na OS a DFS - klinického a patologického stagingu, míry patologické léčebné odpovědi, histopatologického typu podle Lauréna a dalších histopatologických faktorů, jako grade nádoru či přítomnost angioinvaze a perineurální invaze.

## 7. Metody a materiál

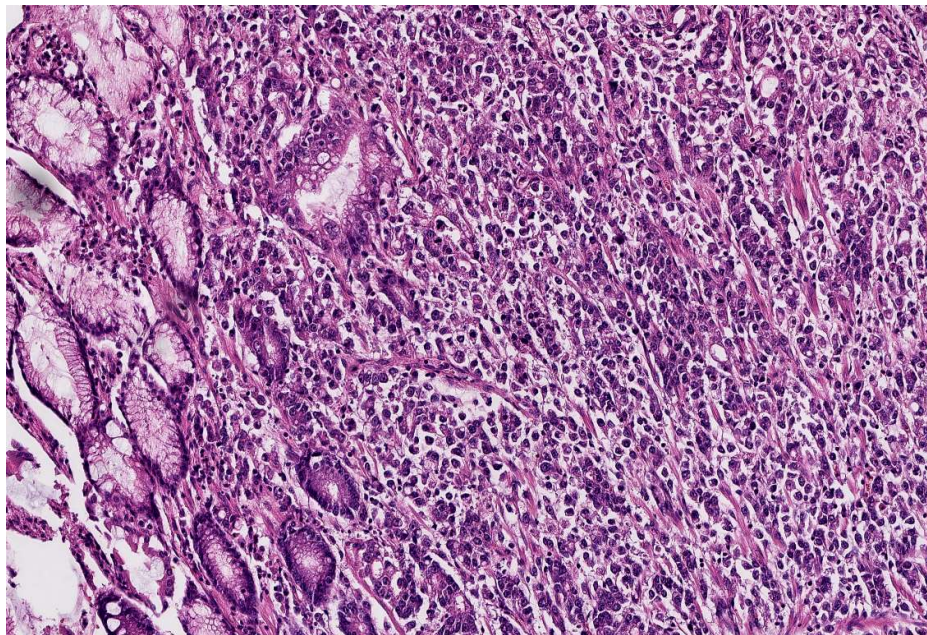
Retrospektivně jsme hodnotili data pacientů s lokálně a/nebo regionálně pokročilými (T3-T4 a/nebo N+ M0), histologicky verifikovanými adenokarcinomy distálního jícnu (nádory s centrem 1 cm a více nad epitelovou junkcí, lokalita odpovídala typu Siewert I), gastroesofageální junkce (nádory v oblasti kardiie a subkardiálně s centrem ne více než 5 cm pod junkcí, odpovídajícím typu Siewert II a III) a žaludku. Klinické staging vycházel z vyšetření počítačovou tomografií před léčbou. Endosonografie byla použita v případech, kdy lymfatické uzliny nebyly považovány za suspektní ke stanovení cT-stagingu s cílem vyloučení klinických stádií T1-T2N0M0. U všech pacientů byly nádory multidisciplinárním týmem považovány za potenciálně resekabilní a bez vzdálených metastáz, a to na základě hodnocení předléčebných stagingových vyšetření (především počítačové tomografie). Termín potenciální resekabilita u některých lokálně pokročilých nádorů ovšem znamenala resekabilitu hraniční až spornou, kdy chirurg počítal se zmenšením primárního nádoru vlivem předoperační terapie. Všichni pacienti podstoupili předoperační chemoradioterapii s cílem následného kurativního operačního výkonu. Minimální předepsaná dávka předoperační radioterapie u pacientů zařazených do studie byla 40 Gy. Předléčebný klinický a pooperační patologický staging byl hodnocen podle TNM klasifikace zhoubných nádorů International Union Against Cancer (UICC), 7. vydání (10).

Histopatologický stupeň diferenciacie vycházel z biopsie nádoru před léčbou. Nádor typu Laurén byl přiřazen na základě vyhodnocení obou vzorků, z biopsie před léčbou a z resekátu. Angioinvaze a perineurální invaze byla hodnocena z resekátu. Hodnocení míry léčebné odpovědi vycházelo z relativního počtu reziduálních nádorových buněk (RTC) ve vztahu k hrubě identifikovatelnému nádorovému loži primárního místa nádoru. Byla použita pětistupňová stupnice (I-V) nádorové odpovědi (RTC: 0%, <1%, 2-10%, 11-50% a 51-100%). Toto hodnocení je v souladu s metodami používanými v klinických studiích zveřejněných dříve (101-103). Sklíčka byla hodnocena odděleně dvěma patology se zkušenostmi s gastrointestinálními nádory (prof. MUDr. Jan Laco, Ph.D. a prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D.) a všechny nesouhlasné případy byly přezkoumávány, dokud nebylo dosaženo konsensu. Příklady hodnocených případů jsou uvedeny na [obrázcích 15-21](#).



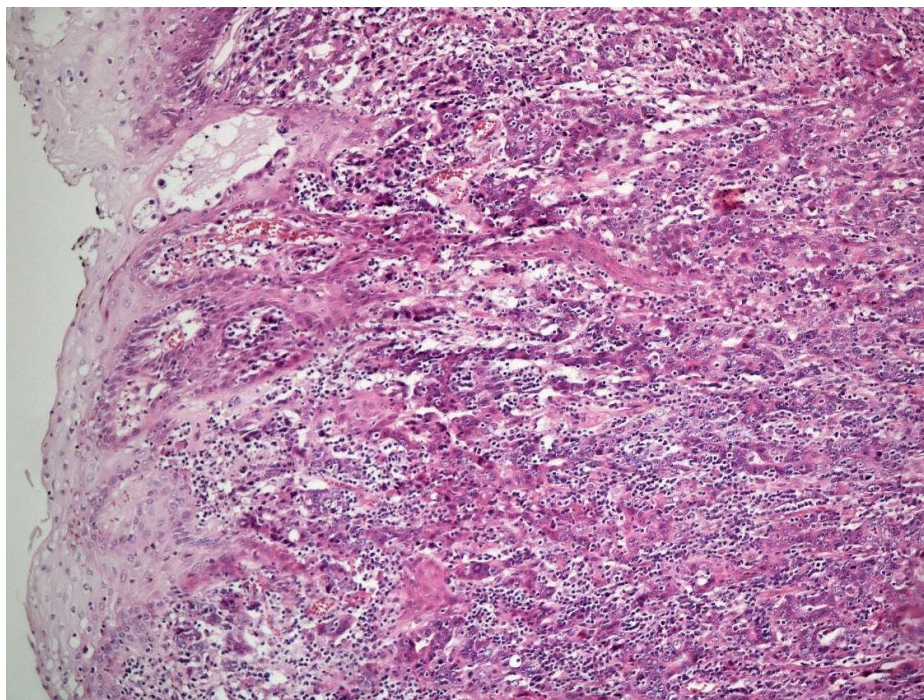


**Obr. 15. Adenokarcinom žaludku, intestinální typ podle Lauréna, hematoxylin-eosin (s laskavým svolením prof. MUDr. Aleše Ryšky, Ph.D.)**

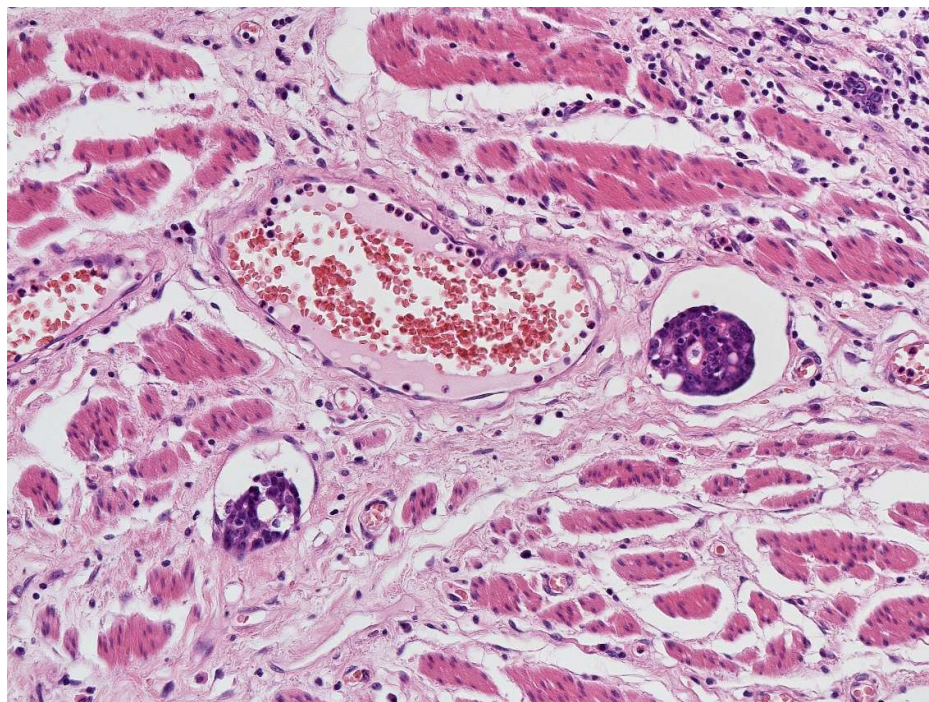


**Obr. 16. Adenokarcinom žaludku, difúzní typ podle Lauréna, hematoxylin-eosin (s laskavým svolením prof. MUDr. Aleše Ryšky, Ph.D.)**



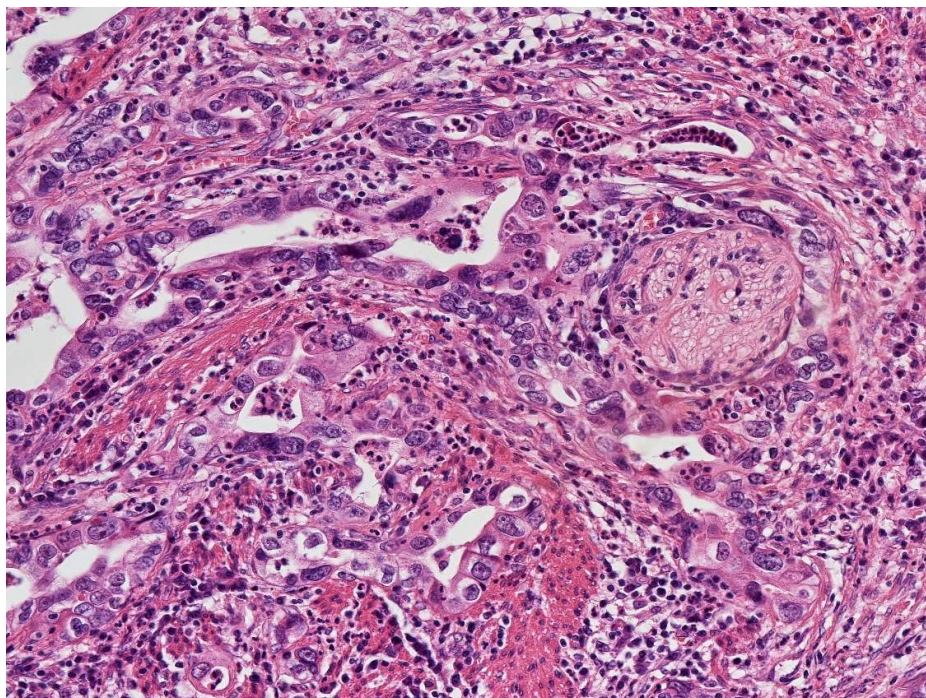


**Obr. 17. Adenokarcinom gastroesofageální junkce, difúzní typ podle Lauréna, je zachyceno prorůstání pod sliznicí dlaždicobuněčného epitelu distálního jícnu, hematoxylin-eosin (s laskavým svolením prof. MUDr. Aleše Ryšky, Ph.D.)**

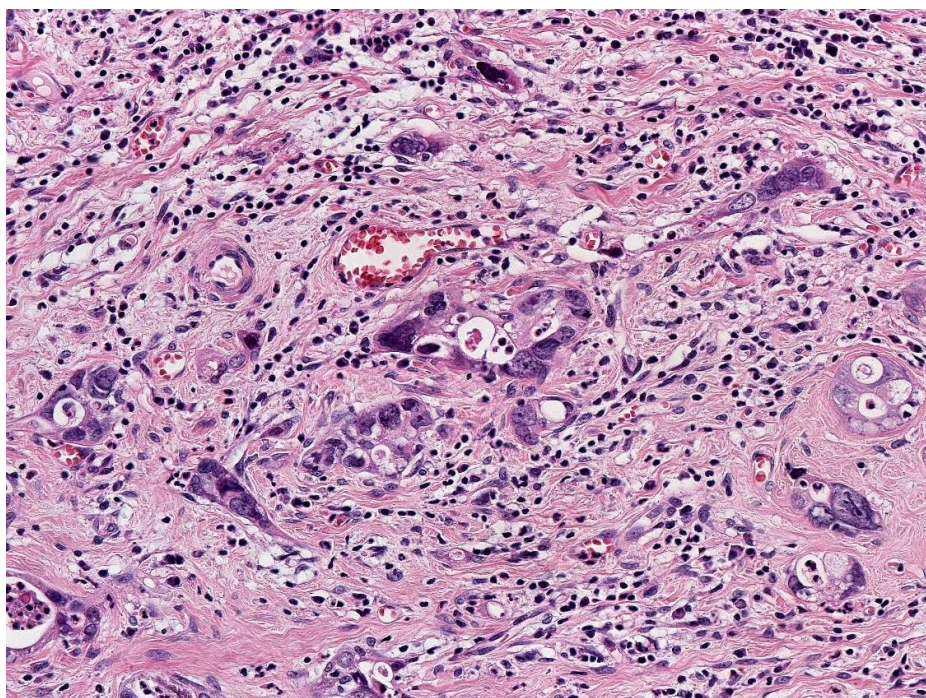


**Obr. 18. Adenokarcinom žaludku se zachycenou angioinvazí, hematoxylin-eosin (s laskavým svolením prof. MUDr. Aleše Ryšky, Ph.D.)**



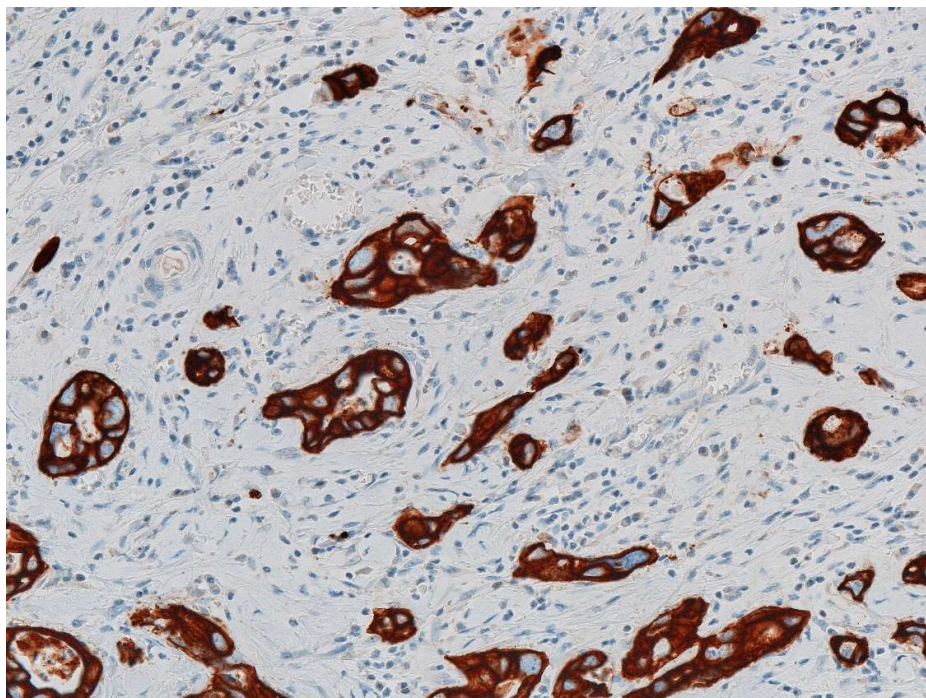


**Obr. 19. Adenokarcinom žaludku se zachycenou perineurální invazí, hematoxylin-eosin (s laskavým svolením prof. MUDr. Aleše Ryšky, Ph.D.)**



**Obr. 20. Adenokarcinom žaludku, regrese po neoadjuvantní chemoradioterapii, počet reziduálních nádorových buněk je méně než 10%, hematoxylin-eosin (s laskavým svolením prof. MUDr. Aleše Ryšky, Ph.D.).**





**Obr. 21. Adenokarcinom žaludku, regrese po neoadjuvantní chemoradioterapii, počet reziduálních nádorových buněk je méně než 10%, imunohistochemické barvení na cytokeratin (s laskavým svolením prof. MUDr. Aleše Ryšky, Ph.D.)**

### **7.1. Statistická analýza**

Pro charakterizaci kohorty pacientů byla použita deskriptivní statistika, včetně mediánu, střední hodnoty a 95% intervalu spolehlivosti pro kontinuální data a absolutní a relativní frekvence pro kategorická data. Pro analýzu přežití byla použita Kaplan-Meierova analýza a log-rank test. Pro analýzu vztahu mezi charakteristikami pacienta, nádoru nebo léčby a přežitím byla použita univariální a multivariální Coxova regresní analýza. Vztah mezi lokalitou primárního nádoru a dalšími nezávislými faktory byl také hodnocen pomocí chí-kvadrát testu. Za statisticky významnou byla považována hodnota  $p < 0,05$ . Všechny statistické analýzy byly provedeny pomocí statistického softwarového programu NCSS 8 (NCSS, Keyesville, Utah).

## 8. Výsledky

Do retrospektivní studie bylo zařazeno celkem 108 pacientů, kteří podstoupili v období v letech 2000 až 2014 CHRT pro potenciálně operabilní adenokarcinom distálního jícnu, gastroesofageální junkce nebo žaludku v předoperační indikaci. Lokalita primárního nádoru byla ve 24 případech distální jícnem, u 39 pacientů GEJ a 45 pacientů žaludek. Podrobné charakteristiky pacientů a jejich onemocnění jsou shrnuty v [tabulce 5](#).

### 8.1. Konkomitantní chemoradioterapie a operace

Předepsaná dávka radioterapie se pohybovala od 40 do 50,4 Gy, přičemž střední předepsaná dávka byla 45 Gy. Vyšší dávka 50,4 byla předepsána obvykle u adenokarcinomů distálního jícnu, zatímco dávka 45 Gy byla indikována u nádorů GEJ a žaludku. Dávka 40 Gy byla použita historicky s konvenčními radioterapeutickými technikami.

Klinický cílový objem při radioterapii karcinomu žaludku zahrnoval žaludek a regionální lymfatické uzliny. U nádorů GEJ a distálního jícnu byl CTV rozšířen tak, aby zahrnoval jícnem 4 cm nad vlastním nádorem (GTV), a naopak, v těchto případech nezahrnoval distální části žaludku. Radioterapeutická technika se v kohortě vyvíjela v čase od konvenční techniky (dvě protilehlá přední anteriorní pole se stíněním části ledvin) až po konformní radioterapii a radioterapii s modulovanou intenzitou. IMRT se stala standardní technikou radioterapie v těchto indikacích v našem centru od roku 2009.

Konkomitantní chemoterapie byla aplikována všem 108 pacientům. U všech pacientů byl indikován 5-fluorouracil v kontinuální infuzi (200 mg/m<sup>2</sup>/den). U 80 pacientů (74%) byl podáván současně týdenní režim cisplatin (25-40 mg/m<sup>2</sup>) a u sedmi pacientů byl k 5-fluorouracilu a cisplatině přidán docetaxel nebo paklitaxel.

R0 resekce byla dosažena u 80 pacientů (74%). Resekce byla klasifikována jako R1 u tří pacientů. Nádor byl inoperabilní u 23 pacientů (13 případů byly nádory žaludku, 7 případů byly nádory GEJ a 3 inoperabilní nádory byly lokalizovány v distálním jícnu). Nejčastější příčinou inoperability byla, zejména u karcinomů žaludku, peritoneální diseminace. Dva pacienti nepodstoupili operaci. Jeden pacient s karcinomem žaludku zemřel krátce před plánovanou operací na sepsi, druhý pacient (adenokarcinom distálního jícnu) po absolvované CHRT operaci odmítl.

Charakteristika pacientů a nádoru	Počet pacientů	
	Absolutní	Relativní
<b>Pohlaví</b>		
Muž	88	81 %
Žena	20	19 %
<b>Věk</b>	medián 62,5 let (rozmezí 28 – 80 let)	
<b>Lokalita primárního nádoru</b>		
Distální jícn	24	22 %
Gastroesofageální junkce	39	36 %
Žaludek	45	42 %
<b>Předléčebné klinické stadium</b>		
T2N1M0	20	19 %
T2N2M0	2	2 %
T3N0M0	15	14 %
T3N1M0	43	40 %
T3N2M0	14	13 %
T3N3M0	2	2 %
T4N0M0	2	2 %
T4N1M0	7	6 %
T4N2M0	3	3 %
<b>Angioinvaze</b>		
Nepřítomná	55	51 %
Přítomná	32	30 %
Informace nedostupná	21	19 %
<b>Perineurální invaze</b>		
Nepřítomná	74	69 %
Přítomná	13	12 %
Informace nedostupná	21	19 %
<b>Grading</b>		
Grade 1	4	4 %
Grade 2	40	37 %
Grade 3	63	58 %
Informace nedostupná	1	1 %
<b>Histologický subtype podle Lauréna</b>		
Intestinální	68	63 %
Difúzní	24	22 %
Smíšený	10	9 %
Informace nedostupná	6	6 %

**Tab. 5. Charakteristika pacientů a jejich onemocnění**

Skupina pacientů s radikální resekcí byla ve statistických analýzách ve srovnání se všemi ostatními pacienty s resekcí R1 nebo bez resekce vůbec („radikalita resekce“).

Všechny charakteristiky léčby jsou shrnuty v [tabulce 6](#).

Parametr	Počet pacientů	
	Absolutní	Relativní (n = 108)
<b>Dávka radioterapie</b>		
40 Gy v 20 frakcích	25	23 %
41.40 Gy v 23 frakcích	1	1 %
45 Gy v 25 frakcích	66	61 %
50.4 Gy v 28 frakcích	16	15 %
<b>Technika radioterapie</b>		
AP/PA pole	46	43 %
3D-CRT	19	17 %
IMRT	43	40 %
<b>Konkomitantní chemoterapie</b>		
5-fluorouracil	108	100 %
Cisplatina	80	74 %
Paklitaxel nebo docetaxel	7	6 %
<b>Radikalita resekce</b>		
R0	80	74 %
R1	3	3 %
Inoperabilní onemocnění	23	21 %
Bez operace	2	2 %
<b>Adjuvantní chemoterapie (po R0 resekci)</b>		
<b>Ano</b>	34	31 %
Režim s 5-fluorouracilem	31	29 %
Režim s cisplatinou a/nebo taxany	3	3 %
<b>Ne</b>	46	43 %

**Tab. 6. Léčebná data.**

*Zkratky: AP/PA = předozadní a zadopřední; 3D-CRT = 3-dimensionální konformní radioterapie; IMRT = radioterapie s modulovanou intenzitou.*

Kompletní patologická léčebná odpověď byla zaznamenána v 19 %, kompletní a téměř kompletní patologická léčebná odpověď pak v 41 % z původního počtu 108 pacientů (Tab. 7).

Stupeň patologické léčebné odpovědi	Počet vitálních reziduálních nádorových buněk	Klasifikace léčebné odpovědi	Počet pacientů	
			Absolutní	Relativní (n = 108)
I	0 %	Kompletní patologická léčebná odpověď	20	19 %
II	≤1 % (izolované nádorové buňky)	Téměř kompletní patologická léčebná odpověď	24	22 %
III	2-10 %	Parciální patologická léčebná odpověď	16	15 %
IV	11-50 %	Střední patologická léčebná odpověď	8	7 %
V	51-100 %	Minimální nebo žádná patologická léčebná odpověď	11	10 %
NA	Není dostupné	Nebyla resekce Nebyl k dispozici resekát	29	27%

**Tab. 7. Vyhodnocení patologické léčebné odpovědi**

## 8.2. Adjuvantní chemoterapie

Adjuvantní chemoterapie byla indikována u pacientů, kteří podstoupili léčebnou resekci a po operaci byli v dobrém výkonnostním stavu, zejména u nádorů žaludku a GEJ. Indikace nebyla ovlivněna nádorovou odpovědí po CHRT. Celkově byla adjuvantní chemoterapie podávána 34 pacientům (31%), podle lokality primárního nádoru: 19 pacientům s karcinomem žaludku (42%), 15 pacientům s nádorem GEJ (38%) a jednomu pacientovi s nádorem distální jícnu (4%). Adjuvantní léčba u 31 pacientů (29 % z původního počtu) obsahovala kombinace 5-fluorouracilu, u třech pacientů (3%) byl indikována kombinace s cisplatinou nebo taxanem.

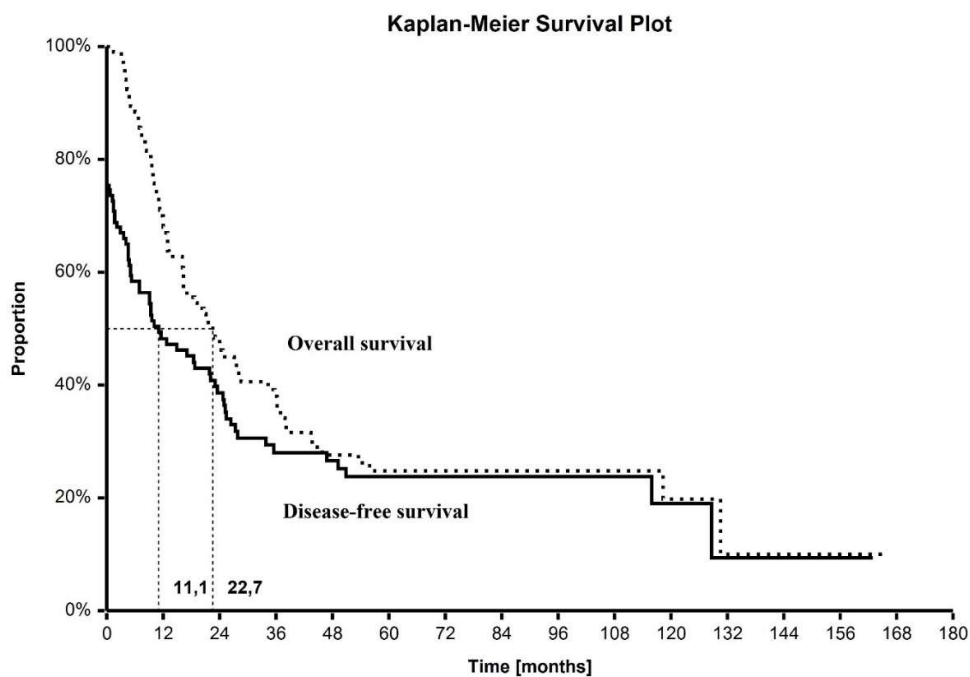
## 8.3. Poléčebné sledování

Pacienti s inoperabilním onemocněním podstoupili paliativní léčbu nebo symptomatickou léčbu v závislosti na jejich výkonnostním stavu, rozsahu onemocnění a aktuálních doporučeních systémové paliativní léčby. Stejný přístup byl použit u pacientů s relapsem nemoci v průběhu sledování.

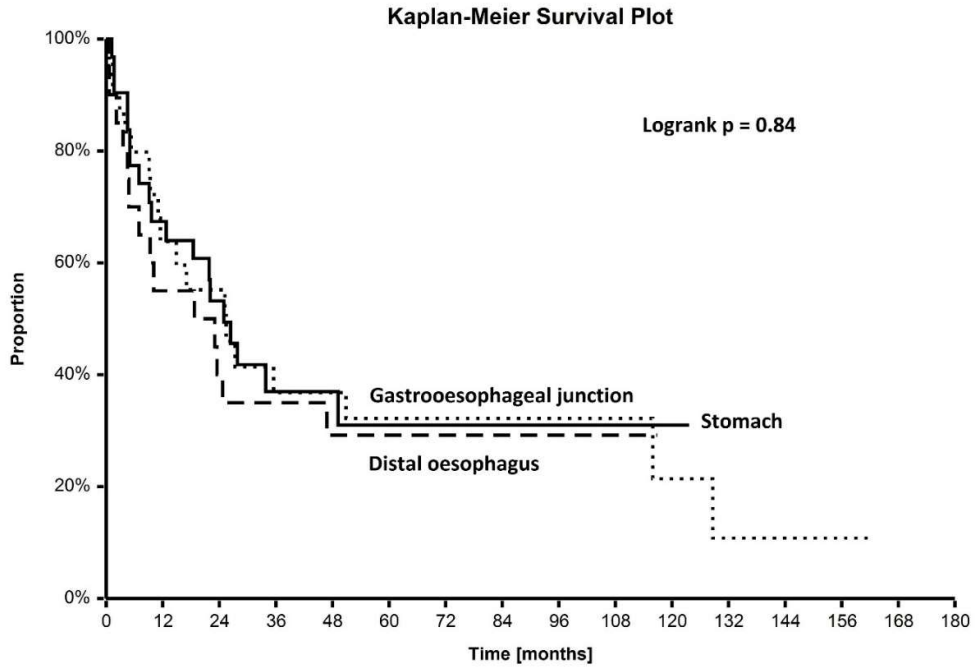
Mezi osmdesáti pacienty, kteří dosáhli R0 resekce, byl relaps zachycen v 37 případech (46%). S výjimkou dvou případů, kdy byla odhalen synchronní lokální a vzdálený relaps, se jednalo vždy o vzdálené metastatické postižení (jaterní metastázy, plicní metastázy, peritoneální či pleurální diseminace, případně další místa). Ve třech případech byla identifikována druhá primární malignita (dvakrát karcinom močového měchýře a jednou karcinom pankreatu).

#### 8.4. Přežití

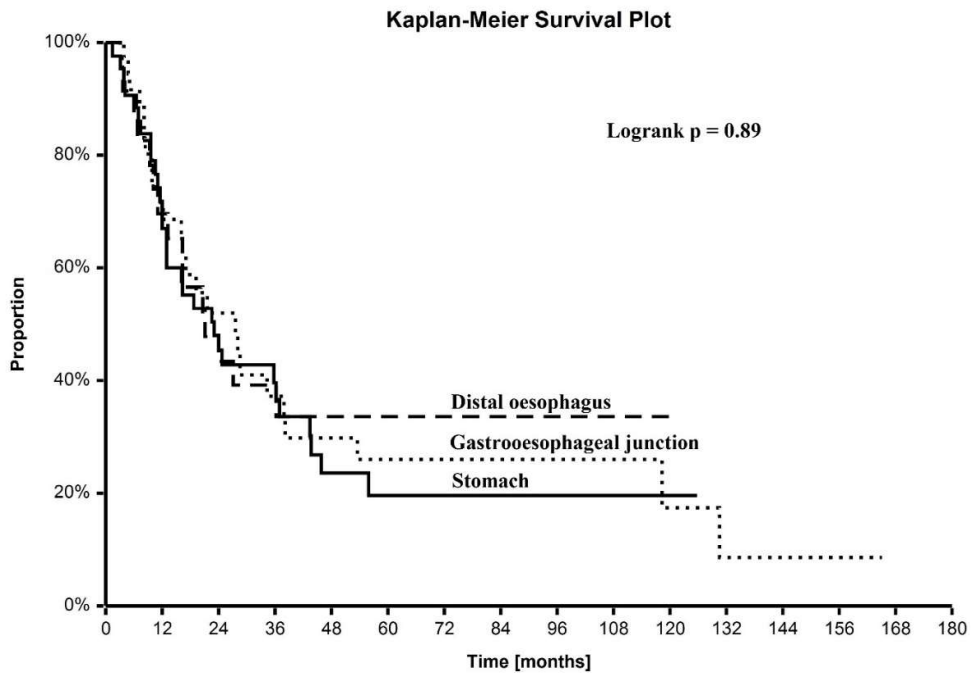
Střední doba sledování přežívajících pacientů byla 50,8 měsíce (rozmezí 7-165 měsíců). Tříleté a pětileté celkové přežití bylo 36,2% (95% CI 26,3 - 46,0%) a 25,3% (95% CI 15,9 - 34,7%); a 3letý a 5letý DFS činil 28,1% (95% CI 19,0 - 37,2%) a 23,7% (95% CI 14,8 - 32,7%) (obr. 22). Vliv lokality primárního nádoru na OS a DFS nebyl prokázán (obr. 23A a 23B).



Obr. 22. Celkové přežití a přežití bez známek nemoci (n=108)



**Obr. 23A. Přežití bez známek nemoci podle lokality primárního nádoru**



**Obr. 23B. Celkové přežití podle lokality primárního nádoru (B)**



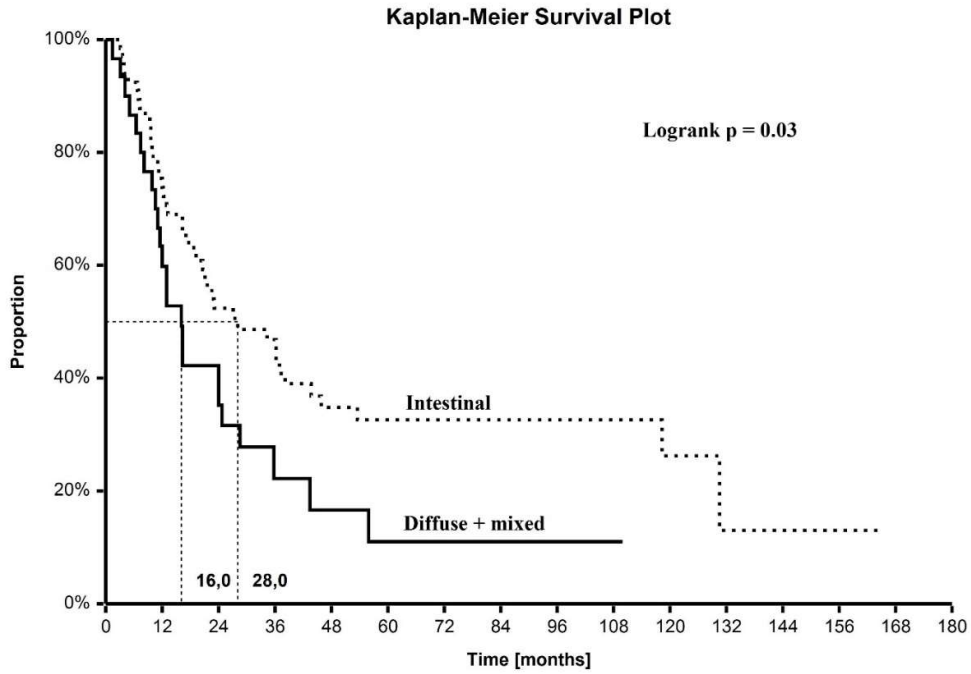
## Analýza dalších faktorů

Log-rank test odhalil jako statisticky významné prognostické faktory předléčebné cT-stádium (OS i DFS), patologické N-stádium (OS i DFS), radikalitu resekce (OS), Laurénův typ nádoru (OS), histopatologický grade (OS), angioinvazi (OS a DFS) a perineurální invazi (OS a DFS). Coxova regresní univariační analýza zaznamenala jako významný prognostický faktor předléčebné cT-stádium (OS i DFS), patologické N-stádium (OS i DFS), počet pozitivních lymfatických uzlin (OS i DFS), radikalitu resekce (OS), Laurénův typ nádoru (OS), histopatologický grade (OS), angioinvazi (OS a DFS) a perineurální invazi (OS). Coxova regresní multivariační analýza potvrdila statisticky významný vliv předléčebného cT-stádia na DFS, patologického N-stádia na DFS a OS, radikalitu resekce na OS a přítomnost angioinvaze na OS. Přežití nebylo ovlivněno věkem ( $\leq 65$  let versus  $> 65$  let) ani pohlavím. Podobně, jako neměla na výsledky léčby lokalita primárního nádoru, nebyl zaznamenán jakýkoliv vliv dávky radioterapie nebo techniky radioterapie. Stupeň patologické léčebné odpovědi po CHRT (stupeň I-II vs. stupeň III-V) měl význam hraniční ( $p = 0,08$ ). Při srovnání dosažení kompletní patologické odpovědi s jakoukoliv perzistencí nádoru (stupeň I vs. stupeň II-V) nebyl dopad na prognózu statisticky významný.

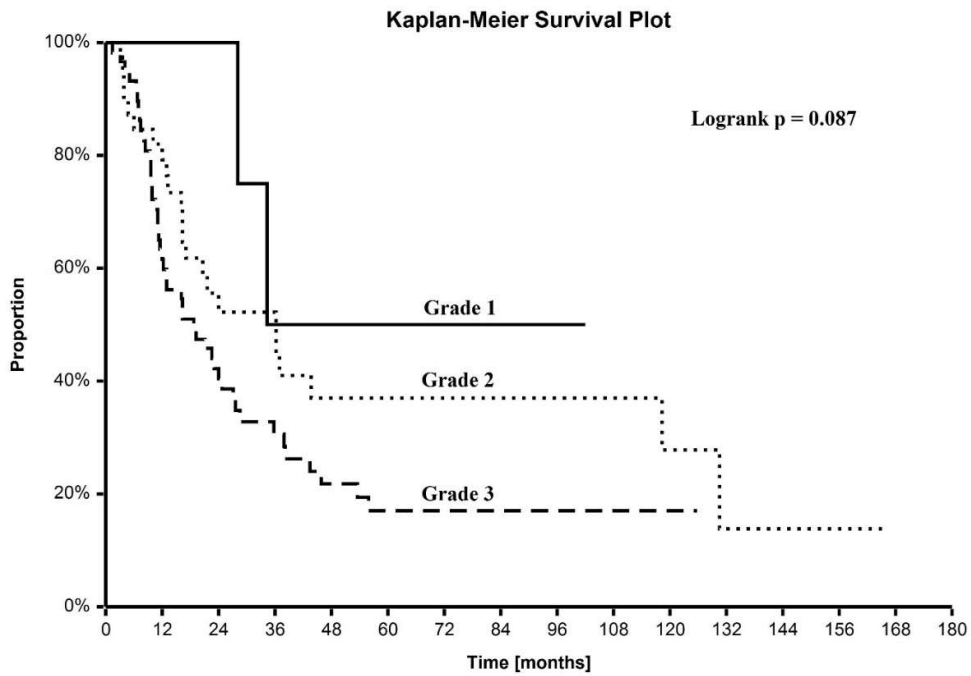
Vliv podání adjuvantní chemoterapie na výsledné DFS ani OS nebyl ve studii zaznamenán ( $p = 0,51$  a  $p = 0,70$ , resp.), byť adjuvantní chemoterapie byla indikována zejména u pacientů s karcinomy žaludku. Podrobné výsledky jsou uvedeny v tabulce 3. Vliv histopatologických faktorů (Laurénův histopatologický typ, stupeň nádoru, přítomnost angioinvaze a perineurální invaze) na OS je pak dokumentován na [obrázcích 24A-D](#).

Podrobná analýza (Log-rank test, Coxova regresní univariační a multivariační analýza) jednotlivých faktorů na celkové přežití a přežití bez známek progresu je prezentována v [tabulkách 8A-8C](#). Data celkového přežití (medián celkového přežití a 5-leté celkové přežití) pro Laurénův histopatologický subtyp, grade nádoru, přítomnost angioinvaze a přítomnost perineurální invaze jsou pak v [tabulce 9](#).

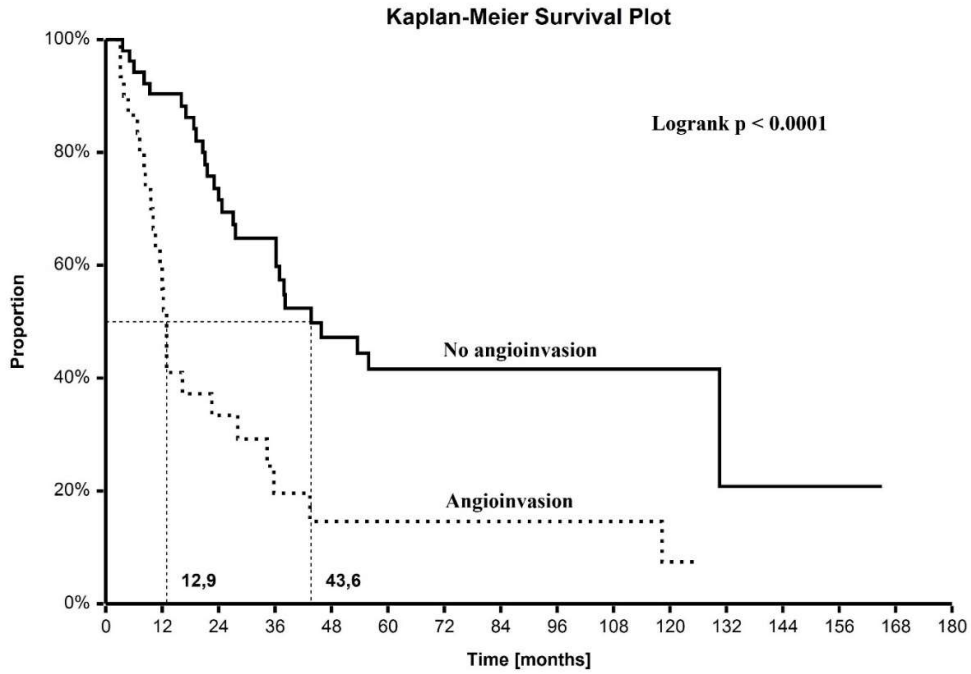
Asociaci lokality primárního nádoru a faktorů, u kterých byl prokázán vliv prognózu, hodnotila následná analýza (viz [tabulka 10](#)). V podskupině karcinomů žaludku byl častěji zachycen histopatologický grade 3, difúzní nebo smíšený histologický typ dle Lauréna a přítomnost angioinvaze. Přes tyto rizikové faktory nebyla samotná lokalita primárního tumoru asociována s horší prognózou onemocnění.



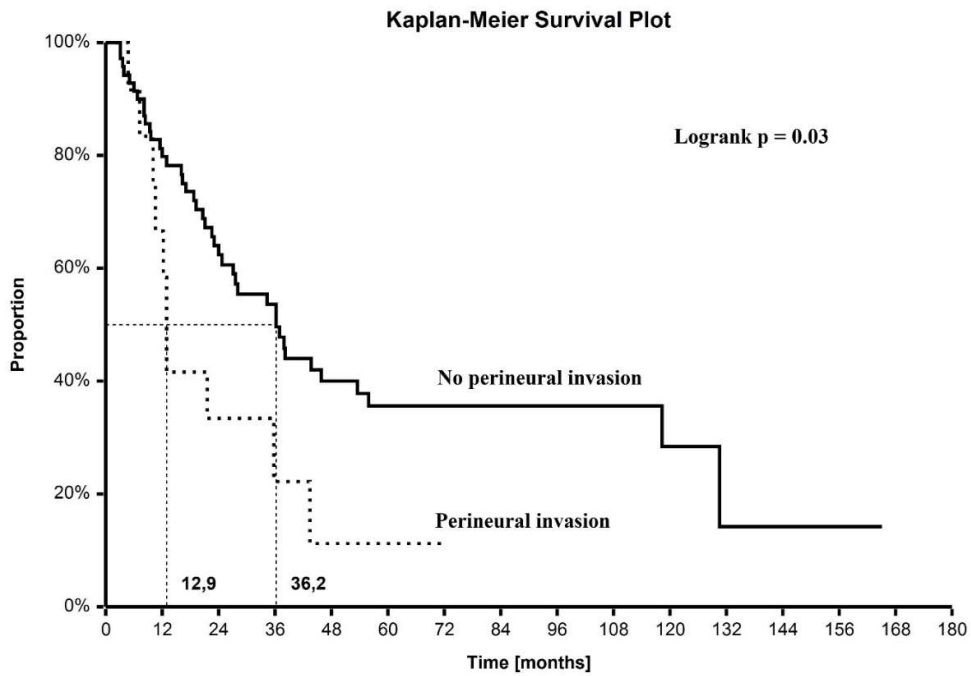
**Obr. 24A. Celkové přežití a histopatologický typ dle Lauréna**



**Obr. 24B. Celkové přežití a histopatologický stupeň diferenciacie nádoru**



**Obr. 24C. Celkové přežití a angioinvaze**



**Obr. 24D. Celkové přežití a perineurální invaze**

<b>Faktor</b>	<b>Přežití bez známek nemoci (DFS)</b>	<b>Celkové přežití (OS)</b>
<b>Pohlaví</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>Lokalita primárního nádoru</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>cT stádium</b>	<b>p = 0,015</b> T3/T2 HR 1,92, 95% CI 1,05 – 3,51 T4/T3 HR 2,41, 95% CI 0,53 – 10,91 T4/T2 HR 5,05, 95% CI 0,68 – 37,70	<b>p = 0,002</b> T3/T2 HR 2,32, 95% CI 1,34 – 3,99 T4/T3 HR 1,97, 95% CI 0,80 – 4,00 T4/T2 HR 3,95, 95% CI 1,40 – 11,14
<b>cN stádium</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>ypT stádium</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>ypN stádium</b>	<b>p = 0,002</b> ypN1/ypN0 HR 2,84, 95% CI 1,09 – 7,39	<b>p = 0,0006</b> ypN1/ypN0 HR 2,48, 95% CI 1,00 – 6,19
<b>Radikální resekce</b>	-	<b>p &lt; 0,0001</b> No/Yes HR 3,81, 95% CI 1,82 – 7,98
<b>Subtyp podle Lauréna</b>	<b>ns</b>	<b>p = 0,028</b> Diffuse/Intestinal HR 1,73, 95% CI 0,99 – 3,02
<b>Histopatologický grade</b>	<b>ns</b>	<b>p = 0,03</b> Grade 2/Grade 1 HR 1,65, 95% CI 0,51 – 5,40 Grade 3/Grade 2 HR 1,57, 95% CI 0,97 – 2,53 Grade 3/Grade 1 HR 2,83, 95% CI 1,14 – 7,01
<b>Angioinvaze</b>	<b>p = 0,0005</b> Yes/No HR 2,59, 95% CI 1,32 – 5,07	<b>p = 0,0001</b> Yes/No HR 2,88, 95% CI 1,51 – 5,50
<b>Perineurální invaze</b>	<b>p = 0,049</b> Yes/No HR 2,03, 95% CI 0,80 – 5,16	<b>p = 0,031</b> Yes/No HR 2,09, 95% CI 0,85 – 5,12

**Tab. 8B. Faktory ovlivňující přežití bez známek nemoci (DFS) a celkové přežití (OS).**

**Log-rank test**

Faktor	Přežití bez známek nemoci (DFS)	Celkové přežití (OS)
Věk	ns	ns
Pohlaví	ns	ns
Lokalita primárního nádoru	ns	ns
cT stádium	<b>p = 0,009</b> RR 2,15, 95% CI 1,21 – 3,83	<b>p = 0,0006</b> RR 2,09, 95% CI 1,37 – 3,17
cN stádium	ns	ns
ypT stádium	ns	ns
ypN stádium	<b>p = 0,006</b> ypN1 RR 2,90, 95% CI 1,36 – 6,21 ypN2 RR 1,90, 95% CI 0,71 – 5,09 ypN3 RR 5,38, 95% CI 1,76 – 16,43	<b>p = 0,013</b> ypN1 RR 2,55, 95% CI 1,21 – 5,36 ypN2 RR 1,68, 95% CI 0,63 – 4,45 ypN3 RR 6,20, 95% CI 2,24 – 17,17
Počet pozitivních lymfatických uzlin	<b>p = 0,013</b> RR 1,07, 95% CI 1,02 – 1,14	<b>p = 0,0026</b> RR 1,09, 95% CI 1,03 – 1,14
Radikální resekce	-	<b>p &lt; 0,0001</b> RR 4,50, 95% CI 2,61 – 7,75
Subtyp podle Lauréna	ns	<b>p = 0,03</b> RR 1,75, 95% CI 1,06 – 2,93
Histopatologický grade	ns	<b>p = 0,03</b> RR 1,62, 95% CI 1,05 – 2,51
Angioinvaze	<b>p = 0,0008</b> RR 1,65, 95% CI 1,23 – 2,22	<b>p = 0,0001</b> RR 1,75, 95% CI 1,32 – 2,33
Perineurální invaze	ns	<b>p = 0,036</b> RR 1,46, 95% CI 1,03 – 2,07
Dávka radioterapie	ns	ns
Technika radioterapie	ns	ns
Léčebná odpověď	ns	ns

Tab. 8B. Faktory ovlivňující přežití bez známek nemoci (DFS) a celkové přežití (OS). Univariační Coxova regresní analýza

Faktor	Přežití bez známek nemoci (DFS)	Celkové přežití (OS)
Věk	ns	ns
Pohlaví	ns	ns
Lokalita primárního nádoru	ns	ns
cT stádium	p = 0,020	ns
cN stádium	ns	ns
ypT stádium	ns	ns
ypN stádium	p = 0,034	p = 0,010
Počet pozitivních lymfatických uzlin	ns	ns
Radikální resekce	-	p = 0,017
Subtyp podle Lauréna	ns	ns
Histopatologický grade	ns	ns
Angioinvaze	ns	p = 0,016
Perineurální invaze	ns	ns
Dávka radioterapie	ns	ns
Technika radioterapie	ns	ns
Léčebná odpověď	ns	ns

**Tab. 8C. Faktory ovlivňující přežití bez známek nemoci (DFS) a celkové přežití (OS).**

#### **Multivariační Coxova regresní analýza**

Výsledky této studie byly publikovány v časopise *Pathology & Oncology Research* (104).

Histopatologický faktor		Medián celkového přežití [měsíce]	5-leté celkové přežití [%] (95% CI)	Logrank test significance level
Subtyp podle Lauréna	intestinální	28,0	32,7% (20,2 – 45,1)	p = 0,028
	difúzní smíšený +	16,0	11,1% (0,00 – 24,7)	
Histopatologický grade	grade 1	34,3	50,0% (1,00 – 99,0)	p = 0,03
	grade 2	36,2	37,0% (19,7 – 54,3)	
	grade 3	18,8	17,0% (6,37 – 27,7)	
Angioinvaze	nepřítomna	43,6	41,6% (26,6 – 56,6)	p = 0,0001
	přítomna	12,9	14,6% (0,12 – 29,2)	
Perineurální invaze	nepřítomna	36,2	35,5% (22,8 – 48,2)	p = 0,031
	přítomna	12,9	11,1% (0,00 – 31,0)	

Tab. 9. Celkové přežití a histopatologické faktory

Parametr nádoru nebo léčby	Žaludek (n = 45)	Distální jícn nebo gastroesofageální junkce (n = 63)	Chi-square test – hladina významnosti
<b>Stádium</b>			p = 0,325
T2	7/45 (15,6%)	15/63 (23,8%)	
T3	31/45 (68,8%)	43/63 (68,3%)	
T4	7/45 (15,6%)	5/63 (8,9%)	
ypN0	14/35 (40,0%)	36/55 (65,5%)	p = 0,031
<b>Histopatologický grade:</b>			p = 0,002
Grade 1	0/45 (0%)	4/62 (6,4%)	
Grade 2	10/45 (22,2%)	30/62 (48,4%)	
Grade 3	35/45 (77,8%)	28/62 (45,2%)	
Radikální resekce R0	31/45 (68,9%)	52/63 (82,5%)	p = 0,097
Subtyp podle Lauréna: difúzní + smíšený	23/45 (51,1%)	10/57 (17,5%)	p = 0,0003
Angioinvaze	18/34 (52,9%)	14/53 (26,4%)	p = 0,012
Perineurální invaze	5/34 (14,7%)	8/53 (15,1%)	p = 0,960

Tab. 10. Zastoupení rizikových charakteristik nádoru nebo léčby v jednotlivých podskupinách podle lokality primárního nádoru.



## 9. Diskuse

Naše retrospektivní klinická studie potvrdila v celém souboru relativně vysokou míru kompletní patologické odpovědi (19%). Navíc, u dalších 22 % pacientů byla pozorována téměř úplná odpověď (izolované vitální nádorové buňky).

Při hodnocení léčebné odpovědi v závislosti na místě primárního nádoru byla nejvyšší kompletní patologická léčebná odpověď zaznamenána právě u karcinomů GEJ (28 %). Pokud by byly analyzovány dohromady adenokarcinomy žaludku a GEJ, pak kompletní patologická odpověď byla v 17 %, což odpovídá uvedeným datům z dříve publikovaných klinických studií, která uváděla míru kompletní patologické odpovědi po předoperační CHRT u karcinomu žaludku a GEJ v rozmezí 7 - 26% (48-60, 62, 102).

U adenokarcinomů jícnu byla kompletní remise v prezentovaném souboru zachycena v 25%. Obecně je pravděpodobnost kompletní patologické odpovědi po CHRT u karcinomu jícnu v literatuře vyšší než u karcinomu žaludku, nicméně problémem většiny těchto studií je společné vyhodnocení pacientů s adenokarcinomy a dlaždicobuněčnými karcinomy (29, 105). Výjimkou byla studie fáze II ACOSOG Z4051, která zahrnovala pouze pacienty s lokálně pokročilým adenokarcinomem distálního jícnu. Tato studie po předoperační RT s konkomitantně podávaným docetaxelem, cisplatinou a panitumumabem zaznamenala míra kompletní patologické odpovědi 33,3% u pacientů, kteří podstoupili chirurgický zákrok, a 27,7% u všech zařazených pacientů (106).

Několik předchozích studií uvádělo, že patologická kompletní léčebná odpověď po předoperační chemoradioterapii karcinomu žaludku a GEJ je spojena s lepším celkovým přežitím (48, 50, 58, 103, 105). Naše studie tuto hypotézu nepotvrdila. Zlepšení celkového přežití u pacientů s patologickou úplnou odpovědí nebylo statisticky významné. Byl zaznamenán pouze trend, nikoliv statisticky významný, pokud byla jako cut-off použita hodnota 1% reziduální zbytkových nádorových buněk. Jednoznačné vysvětlení pro tento nesoulad se zmíněnými literárními údaji nemáme.

Celkové přežití a přežití bez známek onemocnění v této retrospektivní studii jsou ve srovnání s prospektivními studiemi FNCLC, MAGIC, FLOT4 či INT 0116 kratší (42-45). Předkládaná práce ovšem nemá ambice prokazovat benefit či ekvivalenci předoperační chemoradioterapie ve srovnání se stávajícími standardy léčby, za kterou, zejména u nádorů žaludku, nyní pokládáme perioperační chemoterapii FLOT. Horší léčebné výsledky prezentovaného retrospektivně hodnoceného souboru mohou být spojeny se způsobem zařazování pacientů do

protokolu. Mnoho pacientů mělo primárně hraničně resekabilní až neresekabilní onemocnění a multidisciplinární tým v těchto případech doporučil předoperační chemoradioterapii s cílem dosažení operability. Institucionální protokol FN Hradec Králové proto také nezahrnoval diagnostickou laparoskopii právě k vyloučení primární inoperability a peritoneální rozsevu, která ve velkých randomizovaných studiích obvykle doporučena byla. Z výše uvedených důvodů bylo u více než 21 % pacientů zjištěno, že jejich nádorové onemocnění je inoperabilní až během chirurgického zákroku, a to i přestože u řady z nich byly známky regrese onemocnění po předchozí onkologické léčbě. Tento vysoký podíl inoperabilních a metastatických onemocnění zjištěných peroperačně vede k úvahám, zvláště při vědomí širších možností předoperačních léčebných strategií, zda by diagnostická laparoskopie neměla být aspoň u části těchto pacientů obligatorním předléčebným vyšetřením.

Porovnáme-li výsledky prezentované výsledky s výsledky studií, které používaly předoperační chemoradioterapii u karcinomu žaludku a GEJ, včetně zmíněné multicentrické studie RTOG 9904 (48, 50-55, 57, 58, 60), pak pravděpodobnost R0 resekce i výsledky celkové přežití prezentovaného souboru jsou naprosto srovnatelné.

Cílem následných statistických subanalýz bylo zjistit, jaký vliv na léčebné výsledky mají další charakteristiky pacienta, nádoru či léčby, především klinický staging před léčbou a patologický staging, stupeň léčebné odpovědi, typ a grade nádoru, angioinvaze a perineurální invaze. Důležitým bodem, který by mohl ovlivnit tyto výsledky, byl možný efekt adjuvantní chemoterapie. V prezentované studii byla adjuvantní léčba podávána 42 % pacientů s nádory žaludku a 38 % pacientů s nádory GEJ. Protože adjuvantní chemoterapie není standardním postupem u karcinomu jícnu, nebyla adjuvantní chemoterapii podskupina pacientů s nádory distálního jícnu, s výjimkou jednoho pacienta, léčena. Adjuvantní chemoterapie ovšem nebyla spojena s žádným léčebným benefitem přínosem ani u celé skupiny pacientů ani v podskupině karcinomu žaludku či podskupině karcinomu GEJ. Proto předpokládáme, že vliv adjuvantní chemoterapie na výsledky této studie je marginální, pokud nějaký vůbec existuje.

Výsledky naší studie naznačují, že lokalita primárního adenokarcinomu trochu překvapivě nemá při volbě předoperační chemoradioterapie na prognózu takový vliv jako některé hodnocené histopatologické faktory. Na celkové přežití mělo naopak statisticky významný vliv předléčebné klinické T-stadium, nikoliv ovšem předléčebné klinické N-stadium. To lze vysvětlit nejistotou a chybným hodnocením předléčebného stavu regionálních lymfatických uzlin pouze na základě zobrazovacích metod. Naproti tomu patologické N-stadium (v univariační a multivariační analýze), jakož i počet pozitivních lymfatických uzlin (v univariační

analýze), byly staticky významnými prognostickými faktory pro OS. Za zmínku stojí, že patologické N-stádium bylo prediktorem přežití i v dříve publikovaných pracích [14, 15]. Je zřejmé, že u pacientů léčených v neoadjuvantní indikaci patologické N-stadium odráží nejen počáteční rozsah onemocnění, ale také odpověď na terapii. Pro srovnání, Badgwell et al. publikoval retrospektivní studii u 192 pacientů s karcinomem žaludku a GEJ, kteří podstoupili diagnostickou laparoskopii, předoperační CHRT a gastrektomii a jako statisticky významné negativní prognostické faktory uváděli: věk  $\geq 65$  let, pohlaví mužů, resekci R1 a patologický staging pN1, pN2 a pN3 (107).

Prezentovaná studie kromě uvedeného také potvrdila prognostický vliv typu nádoru podle Lauréna (v univariační analýze), histologického stupně diferenciaci (v univariační analýze), přítomnosti perineurální invaze (v univariační analýze) a angioinvaze (v univariační i multivariační analýze).

Že je difúzní, případně smíšený, subtyp adenokarcinomu podle Laurénovy klasifikace spojen s horší prognózou je známo dlouhodobě (4) a odpovídají tomu i novější data (108). Přesto je obecně léčebný přístup pro jednotlivé subtypy stejný. Výše uvedené velké klinické studie, které určovaly standardy léčby, subtyp adenokarcinomu podle Lauréna (případně podle WHO) nezahrnovaly ani mezi stratifikační kritéria (42-45). Výjimkou z velkých studií byla studie CRITICS (47), která však standard léčby nezměnila. Na druhou stranu, některé z těchto významných klinických studií v rámci subanalýz vyhodnocovaly vliv histologického subtypu na výsledky léčby. Ve studii INT-0116 na rozdíl od intestinálního subtypu v podskupině difúzního adenokarcinomu nebyl zaznamenán benefit pooperační chemoradioterapie proti chirurgii samotné (46). Podobně ve studii FLOT 4 nebyl prokázán signifikantní benefit režimu FLOT pro pacienty s difúzními adenokarcinomy na rozdíl od skupiny „ne-difúzních“ adenokarcinomů (44). V případě studie CRITICS nebyl prokázán signifikantní rozdíl mezi rameny pro žádný histologický subtyp (47).

Voron et al retrospektivně analyzoval výsledky léčby 1799 pacientů s adenokarcinomy žaludku, léčených s kurativním záměrem v 19 francouzských centrech. Difúzní karcinomy byly spojené s výrazně horší prognózou (medián OS 26 měsíců proti 51 měsíců). Celkové přežití bylo horší zejména ve stádiu II a III, paradoxně naopak lepší ve stádiu I ( $p = 0,043$ ). Navíc u pacientů s difúzním adenokarcinomem byly zaznamenány odlišné další prognostické faktory (věk nad 60 let, přítomnost linitis plastica nebo prorůstání do okolních orgánů). Tato práce doporučuje pokládat signet-ring cell neboli difúzní adenokarcinom žaludku za samostatnou jednotku mezi adenokarcinomy žaludku s vlastními specifickými prognostickými faktory.

Doporučuje tento histologický typ uplatňovat v nových klinických studiích jako samostatné stratifikační kritérium, neboť může vyžadovat odlišné perioperační léčebné přístupy (109).

Perineurální invazi jako prognostický marker prokázala v minulosti i současnosti řada prací (110-114) a byla jako nezávislý prognostický faktor potvrzena i v metaanalýze (115). Podle De Franca je prognostický význam perineurální invaze spojen především s intestinálním subtypem podle Lauréna (113). Prognostický význam perineurální invaze u adenokarcinomu jícnu po předoperační CHRT nedávno potvrdila retrospektivní studie Patela (116). Podobně i angioinvaze byla dříve prokázána jako prognostický faktor u adenokarcinomů distálního jícnu a GEJ (117) či karcinomu žaludku (114, 118).

Histopatologická rozmanitost adenokarcinomů distálního jícnu, GEJ a žaludku a významný prognostický vliv některých faktorů, který byl potvrzen i v naší studii, vede k úvaze, zda aktuální klasifikace gastroesofageálních adenokarcinomů podle lokality, tj. adenokarcinom jícnu versus adenokarcinom gastroesophageální junkce versus adenokarcinom žaludku, je dlouhodobě správné. Už rozdílné chování a prognóza základních subtypů adenokarcinomu žaludku podle Lauréna (intestinální versus difúzní a smíšený nebo neurčený typ) je natolik významné, že je s podivem, že i tyto subtypy jsou léčeny naprosto shodně. Lze předpokládat, že podobně jako u jiných diagnóz, se i u adenokarcinomů esofagogastrické oblasti budou hledat prediktivní faktory, které umožní správnou volbou léčebného postupu zlepšit terapeutické výsledky. Naše skupina se již v minulosti pokoušela hledat možné prediktory léčebné odpovědi na předoperační chemoradioterapii karcinomu žaludku. Zatímco exprese proteinů p16, p21 a p53 nebyla spojena s rozdílnou léčebnou odpovědí (119), v případě exprese receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) byl vliv statisticky významný. U pacientů s karcinomy s nízkou expresí EGFR byla léčebná odpověď zaznamenána v 57 % (16/28), zatímco při vysoké expresi pouze ve 13 % (1/8) případů ( $p = 0,044$ ) (120).

Aktuálně se ovšem odborná pozornost soustředí nikoliv na histopatologické a morfologické prognostické a prediktivní faktory, ale spíše na faktory molekulárně biologické. Jeden z molekulárně biologických faktorů se již vyšetřuje jako prediktor léčby, ovšem pouze u pokročilého a metastatického adenokarcinomu distálního jícnu, GEJ a žaludku, indikovaného k paliativní systémové léčbě. Jedná se o vyšetření exprese HER2 a amplifikace *HER2/Neu* genu. V případě overexprese HER2 a amplifikace *HER2/Neu* je na základě výsledků studie TOGA indikována kombinace chemoterapie (cisplatina a 5 fluorouracil) a cílené léčby trastuzumabem (89). Otázka přidání trastuzumabu nebo trastuzumabu a pertuzumabu k perioperační chemoterapii byla předmětem dvou randomizovaných studií fáze II pro pacienty

s HER pozitivními karcinomy žaludku: Intergroup Trial (EORTC-Gastrointestinal Tract Cancer Group, Korean Cancer Study Group a Dutch Upper GI-Cancer Group) s názvem "INNOVATION" a japonská studie JCOG1301 (121, 122). V letošním roce byly na výroční konferenci Americké společnosti klinické onkologie (ASCO) prezentovány výsledky randomizované studie NRG oncology/RTOG 1010 pro adenokarcinomy jícnu a GEJ (včetně Siewert 3), kdy 571 pacientů s overexpresí HER2 podstoupilo radioterapii v dávce 50,4 Gy v 28 frakcích v kombinaci s paklitaxelem a karboplatinou s následnou operací nebo v experimentálním rameni stejnou léčbu doplněnou o trastuzumab konkomitantně s chemoradioterapií a adjuvantně po operaci. Přidání trastuzumabu do kombinované léčby ovšem nepřineslo žádný benefit. Medián přežití bez známek nemoci byl 14,2 měsíce proti 19,6 měsíce (HR 0,97; 95% CI 0,69-1,36) a medián celkového přežití 38,5 měsíce proti 38,9 měsíce (HR 1,01; 95% CI 0,69-1,47) (123).

Dalším molekulárně biologickým parametrem, který se určitě brzy uplatní u pokročilého a metastatického adenokarcinomu distálního jícnu, GEJ a žaludku, i když zatím nejdříve opět v léčbě s paliativním záměrem, je vyšetření přítomnosti mismatch repair (MMR) proteinů a mikrosatelitní instability (MSI). MMR proteiny odpovídají za reparace chybného párování bází v průběhu replikace DNA. Nejvíce prozkoumané jsou proteiny MLH1, PMS2, MSH2 a MSH6. Tyto proteiny působí ve dvojicích jako heterodiméry. Inaktivace obou alel genu některého z MMR proteinů vede k dysfunkci systému reparace a vzniku mikrosatelitní instability. Mikrosatelity jsou v genomu vyskytující se krátké, ale opakující se, sekvence nukleotidů. Při defektním MMR systému dochází ke kolísání délky mikrosatelitů, neboť právě tyto sekvence jsou nejvíce zranitelné (124). Na základě hodnocení mikrosatelitů lze pak rozdělit nádory na mikrosatelitně stabilní (MSS), nádory s nízkým stupněm instability (MSI low) a nádory s vysokým stupněm instability (MSI high) (125). Dědičná forma je označována jako Lynchův syndrom, u které je děděn defekt v jedné alele některého z MMR genů a k inaktivaci druhé alely dojde vlivem mutace. Protože je Lynchův syndrom spojen s vyšším rizikem zejména kolorektálního karcinomu, byla problematika MSI studována nejvíce právě u této diagnózy, i když v rámci Lynchova syndromu může dojít ke vzniku i dalších nádorů, jako je endometriální karcinom, uroteliální karcinom, karcinom prostaty, maligní melanom a další malignity, včetně karcinomu žaludku (126). Naproti tomu existují varianty sporadické, u kterých bývá obvykle inaktivace MMR systému způsobená epigeneticky metylací CpG ostrůvků, nejčastěji v promotoru genu *MLH1* (127, 128). U kolorektálního karcinomu je s defektem MMR systému zachyceno přibližně 15 % pacientů, přičemž ve 20 % se jedná o dědičnou formu a v 80 % o

formu sporadickou (129). Právě u kolorektálního karcinomu je již MSI status prediktorem léčby, a to jak pro stádium II, ve kterém nepředstavuje adjuvantní chemoterapie u MSI high karcinomů pro pacienty žádný benefit (130-132), tak pro pacienty ve stádiu IV se vzdálenými metastázami, kdy je již jednoznačně studií Keynote 177 prokázán přínos anti-PD-1 terapie pembrolizumabem (133). Metastatické nádory s defektem MMR systému /MSI high jsou obecně, vzhledem ke kumulaci mutací, spojovány s významně vyšší pravděpodobností odpovědi na imunologickou léčbu anti-PD-1 protilátkami (134).

V případě karcinomu žaludku a GEJ se v publikacích MSI high status uvádí v rozmezí 4 – 24 % (135-144). V souboru, který publikoval *Fang et al.* byl u difúzního karcinomu MSI high typ zachycen u 6,5 % sporadických případů, ale 28 % případů familiárních, u intestinálního typu pak u 16,3 % sporadických případů a 14,6 % familiárních případů (145). Prognostický význam MMR deficiencie / MSI je znám delší dobu (146, 147) a byl prokázán i v metaanalýzách (148, 149), byť u difúzního karcinomu je prognostický význam méně jasný (140).

Že může být MSI status prediktorem léčby i u lokálně pokročilých kurativně léčených adenokarcinomů distálního jícnu, GEJ a žaludku, naznačila post hoc analýza studie MAGIC (150). Autoři dohledali výsledky vyšetření MSI u 303 pacientů a kompletní vyšetření čtyřech MMR proteinů u 268 pacientů mezi původním počtem 456 pacientů, kteří ve studii MAGIC podstoupili chirurgickou léčbu. Jako MSI high bylo označeno 20 vzorků (6,6 %) a MMR deficientní 22 vzorků (8,2 %). Všechny vzorky MSI high a/nebo MMR deficientní byly z karcinomu vycházejícího ze žaludku, nikoliv z GEJ či distálního jícnu. Většina byla asociována s intestinálním typem adenokarcinomu podle Lauréna. MSI high a/nebo MMR deficientní nádory byly spojeny s lepší prognózou ve srovnání s mikrosatelitně stabilními (MSS) a MSI low. Medián OS nebyl dosažen u pacientů s MSI high a/nebo MMR deficientními nádory, zatímco u pacientů s MSS / MSI low byl 20,3 měsíce. Ve skupině pacientů, léčených pouze chirurgicky, u MSI high a/nebo MMR deficientními nebyl medián OS dosažen, zatímco u MSS / MSI low byl 20,5 měsíců (HR 0,42; 95% CI 0,15-1,15; p=0,09). Naproti tomu ve skupině pacientů s perioperační chemoterapií byl medián OS 9,7 měsíců u MSI high a/nebo MMR deficientními proti 19,5 měsíců (HR 2,18; 95% CI 1,08-4,42; p=0,03). Přestože skupina pacientů s MSI high a/nebo MMR deficientními nádory byla poměrně malá, měl tento faktor pozitivní prognostický efekt u skupiny pacientů léčených pouze chirurgií a naopak negativní prognostický vliv u pacientů léčených perioperační chemoterapií. Autoři spekulují, že chemoterapie u těchto pacientů mohla zhoršovat léčebné výsledky negativním ovlivněním protinádorové imunity, jinak účinné u nádorových buněk s vysokým počtem mutací. Tato data

navíc byla v souladu s výsledky dřívější retrospektivní multicentrické studie korejských autorů, kteří zařadili 1276 pacientů, kteří po gastrektomii a D2 disekci podstoupili podle asijských standardů léčby adjuvantní chemoterapii (72 % pacientů), anebo ji odmítli, případně byli zařazení do kontrolních ramen klinických studií bez chemoterapie. Pacienti v klinickém stádiu II a III, kteří nebyli zajištěni adjuvantní chemoterapií, měli v případě MSI high statusu statisticky signifikantně delší celkové přežití proti MSI low/MSS ( $p = 0,027$ ). Naproti tomu u pacientů, kteří byli zajištěni adjuvantní chemoterapií, byla tato prognostická výhoda smazána ( $p = 0,463$ ), což může být i důsledkem negativního vlivu chemoterapie na přežití pacientů s MSI high nádory (139).

Post hoc analýza randomizované studie fáze III CLASSIC, která prokázala po podání adjuvantní chemoterapie XELOX u asijské populace zlepšení DFS a OS (40,41), nepotvrdila přínos kombinované léčby u MSI high nádorů proti samotné chirurgii (5-leté DFS 83,9 % proti 85,7 %,  $p=0,9$ ), zatímco u MSS byl přínos statisticky významný (5-leté DFS 66,8 % proti 54,1 %,  $p=0,002$ ) (151).

Obrovský přínos k této problematice má nedávno publikovaná metaanalýza ze studií MAGIC, CLASSIC, ARTIST a ITACA-S, která zahrnuje 1.556 pacientů s dostupným vyšetřením MSI. V metaanalýze bylo 576 pacientů z Evropy a 980 z Asie, mezi všemi pak bylo 7,8 % případů hodnoceno jako MSI high. 5-leté DFS bylo 71,8 % u MSI high proti 59,3 % u MSI low / MSS, 5-leté OSS pak 77,5 % proti 59,3 %. Pacienti s nádory MSI low / MSS měli přínos z kombinované léčby proti chirurgii samotné (5-leté OS 62 % proti 53 %; HR 0,75; 95% CI 0,60-0,94), naproti tomu pacienti s nádory MSI high nikoliv (5-leté OS 75 % proti 83 %; HR 1,5; 95% CI 0,55-4,12) (152).

Nabízí se otázka, jestli by pro pacienty s MSI high karcinomy nebyla účinnější radioterapie v předoperační nebo pooperační indikaci. Post hoc analýza studie ARTIST, která testovala u asijské populace s karcinomem žaludku přínos pooperační chemoradioterapie proti chemoterapii samotné, a to s negativním výsledkem (153), a která byla také zařazená do výše uvedené metaanalýzy, možný prediktor pro výběr pooperační léčby v MSI statusu nenašla - radioterapie nebyla přínosem ani MSI high nádorů. Studie pouze potvrdila u pacientů s MSI high nádory obecně prognosticky lepší výsledky léčby (144).

Nedávno publikovaná retrospektivní studie čínských autorů hodnotila přínos pooperační chemoradioterapie u pacientů s karcinomy žaludku proti chirurgii samotné. Tato studie zahrnuje 429 pacientů ze tří různých databází: Affiliated Hospital of Jiangsu University ( $n =$



89), The Cancer Genome Atlas (n = 202), and the Asian Cancer Research Group (n = 138). Z pooperační chemoradioterapie profitovali pacienti s karcinomy žaludku ve stádiu III bez ohledu na MSI status. Benefit ovšem nebyl zaznamenán u pacientů ve stádiu IB/II s onemocněním právě MSI high, zatímco u nádorů MSS benefit byl (154).

Zhodnocení skutečného benefitu radioterapie u MSI high nádorů ovšem na základě výše uvedených studií nelze, neboť v těchto studiích byla vždy radioterapie aplikována v kombinaci s chemoterapií, a pokud byla vyslovena hypotéza o možném zhoršení léčebných výsledků u MSI high nádorů vlivem samostatné chemoterapie v důsledku ovlivnění imunitních mechanismů, pak tento efekt může platit i u konkomitantní chemoterapie při radioterapii. Naproti tomu vědomí účinnosti imunologické anti-PD-1 terapie u MSI high metastatických nádorů logicky k úvahám o kombinaci ověření účinnosti chirurgické léčby právě v kombinaci s imunoterapií. A protože preklinická i klinická data u řady nádorových diagnóz potvrzují efektivitu kombinace imunoterapie s radioterapií (155-162), nabízí se ověřit u lokálně pokročilých MSI high adenokarcinomů žaludku přínos kombinace radioterapie, imunoterapie a chirurgie, např. předoperační radioterapie a perioperační imunoterapie, v rámci multicentrické klinické studie.

Prohlubující se znalosti molekulárně-biologických vlastností nádorů a vědomí, že tyto vlastnosti mohou ovlivňovat prognózu nebo dokonce predikovat léčbu, vedla ke snahám o vytvoření klasifikací na základě molekulárních charakteristik nádorů. V roce 2014 byly v Nature publikovány v rámci projektu The Cancer Genome Atlas (TCGA) výsledky molekulární charakteristiky adenokarcinomů žaludku. Podle této práce lze rozdělit adenokarcinomy do čtyř základních subtypů:

- Karcinom s prokázaným virem Epstein-Barrové (EBV) –
- Karcinom mikrosatelitně nestabilní (MSI high)
- Karcinom genomicky stabilní (GS) – asi 20 % případů
- Karcinom chromozomálně nestabilní (CIN) asi 50% případů (163).

EBV pozitivní nádory (asi 9 % případů) se vyskytují hlavně ve fundu a těle žaludku a jsou proti jiným subtypům charakteristické vysokým počtem hypermetylací DNA. U všech EBV pozitivních nádorů byla prokázána hypermetylace CpG ostrůvků promotoru *CDKN2A* (*p16<sup>INK4A</sup>*), nikoliv však *MLH1*, jinak typické pro MSI nádory. Častěji u EBV pozitivních nádorů byla prokázána *PIK3CA* mutace (80 %), *ARID1A* mutace (55 %) a *BCOR* mutace (23 %), naproti tomu vzácné byly mutace v *TP53*. Pro EBV pozitivní nádory je typická silná lymfocytární infiltrace ve stromatu. Genomická analýza prokázala amplifikace genů v oblasti

chromozómu 9p24.1, kódujících PD-L1 a PD-L2 (ligandy PD-1 receptorů), a *JAK2*, čímž je zvýšena exprese PD-1 ligandů. Kromě toho samotná infekce EBV zvyšuje PD-L1 expresi, nezávisle na amplifikaci těchto genů (163).

MSI high nádory (asi 21,7 % případů) se většinou vyskytují u starších pacientů. Genomická instabilita, způsobená ztrátou exprese mismatch repair (MMR) genů mutací genu či hypermethylací genového promotoru, způsobeného, zejména výše zmíněného *MLH1* genu. Vyšší pravděpodobnost mutací byla zaznamenána v genech: *PIK3CA* (42%), *ERBB3*, *RNF43*, *PTEN*, *KRAS*, *TP53* a *ARID1A* (163).

V GS nádorech (19,7 % případů) byla v 37 % případů zachycena *CDH1* mutace. *CDH1* je genem pro proteinu E-cadherin, který se spolupodílí na vzájemné adhezi buněk. GS nádory proto zahrnují především difúzní subtyp adenokarcinomu podle Lauréna. Germinální mutace *CDH1* jsou spojené s hereditárním difúzním karcinomem žaludku. Dalšími mutacemi, zachycovanými u GS nádorů, jsou mutace v genech *RHOA* (*Ras homolog family member A*) a *ARID1A* (163).

CIN nádory tvoří téměř polovinu všech případů (49,8 %). Tyto nádory se nacházejí v celém žaludku, nicméně relativní frekvence je nejvyšší v oblasti gastroesophageální junkce (74,6 %). Pro CIN nádory je typická častá aneuploidie nádorových buněk, naopak nejsou zaznamenávány vysoké frekvence mutací (mutační nálož), jako je u MSI typu. Z mutací je velmi častá mutace v *TP53* (71 %), často jsou zachycovány delece, postihující geny *CDH1*, *CTNNA1* a *RBI*, a objevují se i amplifikace genů pro tyrosinkinásové receptory (*EGFR*, *ERBB2*, *ERBB3* a *FGFR2*), ale i dalších genů (*VEGFA*, *CCNE1*, *CCND1*, *CDK6*) (163).

Na TCGA analýzu karcinomů žaludku navazovala analýza karcinomů jícnu, jejíž výsledky byly publikovány v Nature v roce 2017. Zatímco u dlaždicobuněčných karcinomů (ESCC) byly častěji zachyceny amplifikace genů *CCND1*, *SOX2* a/nebo *TP63*, u adenokarcinomů (EAC) se jednalo o amplifikace *ERBB2*, *VEGFA*, *GATA4* a *GATA6*. Mutace u ESCC byly nejčastěji *TP53*, *NFE2L2*, *MLL2*, *ZNF750*, *NOTCH1* a *TGFBR2*, naproti tomu u EAC byly prokázány mutace v *TP53*, *CDKN2A*, *SMAD4* a *ERBB2*. Práce rozlišuje tři typy: ESCC1, ESCC2 a ESCC3. ESCC1 karcinomy jsou charakterizovány alteracemi NRF2 cesty, přičemž mutace v *NFE2L2* (*NRF2*) je spojena se špatnou odpovědí na chemoradioterapii. Obecně ESCC1 typ připomíná alteracemi genomu HPV negativní dlaždicobuněčné karcinomy nádory hlavy a krku. ESCC2 nádory mají vyšší počet mutace v *NOTCH1* nebo *ZNF750*, a inaktivační alterace *KDM6A* a *KDM2D*, *CDK6* amplifikace a inaktivace *PTEN* nebo *PIK3R1*. ESCC3 nebyly

spojeny s deregulací buněčného cyklu, ale měly alterace spojené s aktivací PIK3CA dráhy a změny v *KMT2D/MLL2* a *SMARCA4*. Jednotlivé typy byly regionálně zastoupeny rozdílně – zatímco ve Vietnamu dominoval typ ESCC1 (66 %), ve východní Evropě a Jižní Americe typ ESCC2, ESCC3 tumory byly zachyceny v USA a Kanadě (164).

Pro adenokarcinomy distálního jícnu a GEJ, pokud byla použita stejná molekulárně biologická klasifikace jako pro karcinomy žaludku, pak mezi EAC jednoznačně dominoval CIN typ (71 ze 72 případů; 98,6 %), pouze jeden karcinom z oblasti GEJ byl zařazen jako GS typ (164).

Nutno podotknout, že snaha projektu TCGA nebyla jediným pokusem o molekulárně biologickou klasifikaci karcinomů žaludku. Asian Cancer Research Group (ACRG) publikovala v roce 2015 molekulární klasifikaci vlastní. ACRG nádory rozdělila na následující čtyři typy: mikrosatelitně instabilní (MSI), mikrosatelitně stabilní s přechodem epiteliálních buněk na mesenchymové (epithelial to mesenchymal transition – EMT), ve kterých epitelové buňky ztrácejí některé vlastnosti, zejména schopnost adheze (MSS/EMT), dále mikrosatelitně stabilní se zachovalou TP53 aktivitou (MSS/TP53+) a mikrosatelitně stabilní se ztrátou aktivity TP53 (MSS/TP53-). Více než 80 % případů MSS/EMT subtypu se jednalo o difuzní typ karcinomu žaludku dle Lauréna, zachycený ve stadiu III a IV. MSI subtyp zahrnoval 60 % nádorů intestinálního typu dle Lauréna. EBV virus byl nejčastěji prokázán v MSS/TP53+ subtypu. Nejlepší prognóza byla spojená s MSI subtypem, následovaná MSS/TP53+ a MSS/TP53-, nejhorší prognóza byla pro MSS/EMT (165).

Z klinického pohledu je limitem výše uvedených projektů, že se jednalo o analýzu nativních nádorových vzorků, archivovaných při teplotách -80 °C. Vlastní analýzy zahrnovaly v případě TCGA projektu celoexomové sekvenování, analýzu polymorfismů a počtu kopií genů, sekvenování mRNA a miRNA, metylační a proteomické arraye (163, 165). V případě ACGR projektu byla tkáň zpracována standardními imunohistochemickými metodami (MMR proteiny, HER2, EGFR), metodami in-situ hybridizace (EBV), ale též analýzou genové exprese a profilováním na úrovni mRNA, cíleným sekvenováním a analýzou počtu kopií genů. Většina zmíněných molekulárně biologických metod vyžaduje vysoce specializované a dobře vybavené laboratoře a je spojena s náročností finanční, personální i časovou.

Lze předpokládat, že pro klinickou praxi nativní vzorky nádorové tkáně běžně dostupné nebudou, ale bude potřeba zpracovávat nadále vzorky tkáně uložené v parafínu. Náš tým se pokusil retrospektivně analyzovat dostupné vzorky adenokarcinomů distálního jícnu a GEJ, uložené v parafínu, metodou multiparalelního sekvenování (dříve next-generation sequencing;

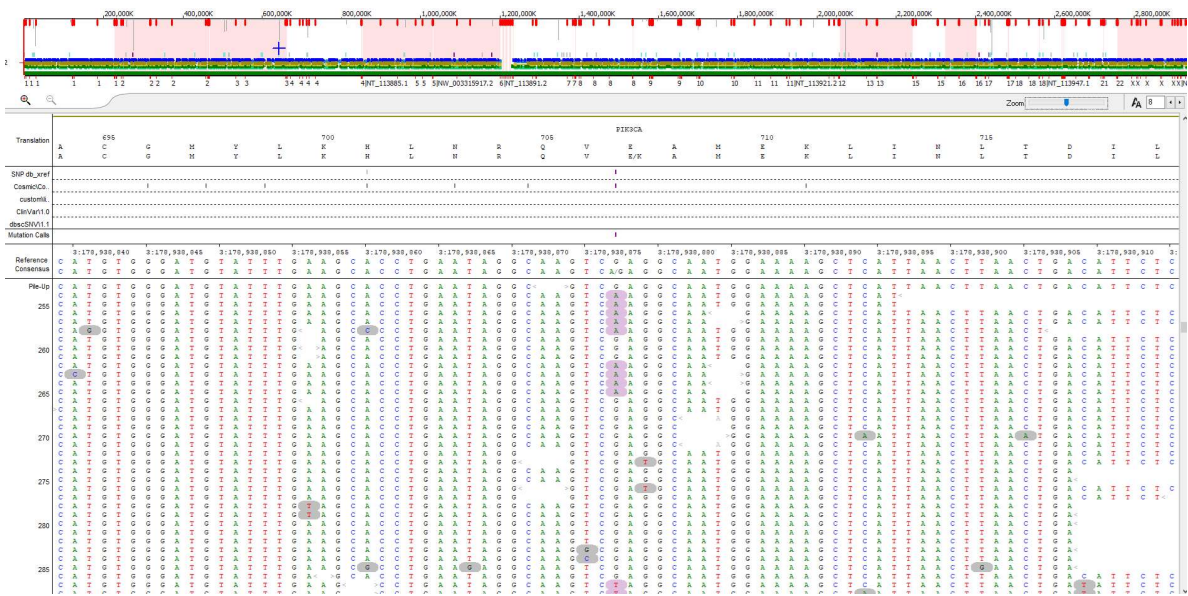
NGS). Metoda NGS je proti výše uvedeným metodám relativně levná a poměrně dobře dostupná v laboratořích molekulární biologie. Primárním cílem studie, publikované in extenso v roce 2018, bylo zhodnotit mutační stav vybraných genů, zařazených do diagnostického panelu. Sekundárním cílem bylo ověřit případnou spojitost mezi mutačním stavem kandidátních genů a histologickým subtypem podle Lauréna, histologickým stupněm diferenciací a lokalitou primárního tumoru (distální jícn versus GEJ). Ve studii bylo analyzováno 56 vzorků nádorů pacientů léčených v letech 2000-2014. Pouze 37 DNA těchto vzorků (66 %) bylo pro analýzu v dostatečné kvalitě. Pravděpodobnost nedostatečné kvality DNA pro analýzu statisticky signifikantně odpovídala délce archivace tkáně ( $p = 0,0001$ ). Analyzovány byly následující geny: *ARID1A*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDKN2A*, *CTNNB1*, *EGFR*, *EPHB2-ERK*, *ERBB2*, *ESR1*, *FBXW7*, *FOXL2*, *GNA11*, *GNAQ*, *HRAS*, *KIT*, *KRAS*, *MDM2*, *MET*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *NOTCH1*, *NRAS*, *PDGFRA*, *PIK3CA*, *PMS2*, *PTEN*, *SMARCA4*, *SMARCB1*, *TP53*, *ALK*, *APC*, *FGFR2*, *MAP2K1*, *CDHI*, *SMAD4*, *STK11*, *SRC*, *GNAS*, *IDH1* a *IDH2*. Nejčastěji byla mutace zachycena v genech *TP53*, *PIK3CA*, *ERBB2* a *MSH6*. Počty detekovaných mutací jsou uvedeny v [tabulce 11](#). Příklady průkazu mutací v genech *TP53* a *PIK3CA* jsou na [obr. 25 a 26](#). [Tabulky 12 a 13](#) prezentují typy mutací v jednotlivých genech. Frekvence jednotlivých mutací v této laboratorní studii odpovídají dříve publikovaným literárním údajům. Ačkoliv byla naznačena spojitost mezi mutačním stavem *PIK3CA* a lokalitou distálního jícnu ( $p = 0,027$ ) a mutačním stavem *MSH6* a difúzním či smíšeným subtypem podle Lauréna ( $p = 0,012$ ), tyto výsledky nebyly statisticky signifikantní vlivem Bonferoniho korekce ([166](#)).

Tato studie analyzovala pouze mutace DNA, nehodnotila expresi genů (mRNA), amplifikace genů či metylační status. Proto nelze na jejím základě zařadit vzorky do jednotlivých typů podle TCGA. Nicméně, např. vysoký počet mutací v genu *TP53*, *PIK3CA* a *MSH6* svědčí, že velká část adenokarcinomů distálního jícnu a junkce odpovídá typu CIN a MSI high. Zmíněná studie ale hlavně potvrdila, že nádorovou tkáň uloženou v parafínu lze pro molekulárně biologické a genetické analýzy použít, pokud se ovšem nejedná o vzorky příliš staré či chybně zpracované. Molekulárně biologická klasifikace adenokarcinomů jícnu, GEJ a žaludku si do budoucna jistě vyžádá zjednodušená metodiky stanovení jednotlivých typů. Na druhou stranu, jednoduše dostupná a levná molekulárně biologická klasifikace, která upřesní biologické chování a prognózu jednotlivých typů adenokarcinomů této lokality a umožní nejefektivnější léčbu s ohledem na typ nádoru, je vysoce žádoucí.





**Obr. 25. Analýza dat multiparalelního sekvenování se zachycenou bodovou mutací v genu *TP53* (s laskavým svolením RNDr. Hany Vošmikové).**



**Obr. 26. Analýza dat multiparalelního sekvenování se zachycenou bodovou mutací v genu *PIK3CA* (s laskavým svolením RNDr. Hany Vošmikové).**

U řady maligních onemocnění se molekulárně biologické analýzy nádorů staly základem pro rozhodování dalšího léčebného postupu. Multiparalelní testování genetických mutací

v nádorových buňkách se postupně stává standardem např. u kolorektálního karcinomu, nemalobuněčných karcinomů plic či maligního melanomu. V této souvislosti mluvíme o tzv. personalizované medicíně, jejíž cílem je poskytnutí správné léčby správnému pacientovi. Aktuálně se personalizovaná medicína uplatňuje, až na výjimky, u metastatických onemocnění, u kterých je indikována systémové protinádorové léčby s paliativním záměrem, ale s výsledky klinických studií se molekulárně biologické prediktory léčby se postupně začínají zařazovat i do algoritmů léčby pokročilých onemocnění, která jsou léčena se záměrem kurativním.

Lze očekávat, že molekulárně biologické analýzy se ve větší míře zapojí i do léčby adenokarcinomů distálního jícnu, GEJ a žaludku, a to i v rámci léčby pokročilých stádií. Toto téma bude jistě v budoucnu předmětem velkých klinických studií a diskusí a konsensů v rámci odborných skupin společností.

<b>Gen</b>	<b>Frekvence mutace (%) mez detekce 10 %</b>	<b>Frekvence mutace (%) mez detekce 5 %</b>
<i>MLH1</i>	0	3
<i>MSH6</i>	11	24
<i>TP53</i>	49	59
<i>ARID1</i>	5	16
<i>ERBB2</i>	13	19
<i>SMAD4</i>	5	5
<i>BRCA1</i>	3	5
<i>BRCA2</i>	3	16
<i>PTEN</i>	0	5
<i>RET</i>	11	16
<i>PIK3CA</i>	13	19
<i>APC</i>	3	5
<i>KRAS</i>	3	3
<i>GNAS</i>	0	3
<i>CDKN2A</i>	5	5
<i>MET</i>	5	5
<i>GNAQ</i>	0	3
<i>PDGFRA</i>	0	3

**Tab. 11. Frekvence detekovaných mutací. Tabulka zahrnuje pouze geny, u nichž byla zachycena mutace alespoň v jednom případě.**



<b>Gen</b>	<b>Missense</b>	<b>Nonsense</b>	<b>Frameshift</b>	<b>Celkem</b>
<i>MSH6</i>			4	4
<i>TP53</i>	13	2	3	18
<i>ARID1</i>			2	2
<i>ERBB2</i>	3		2	5
<i>SMAD4</i>	1		1	2
<i>BRCA1</i>	1			1
<i>BRCA2</i>	1			1
<i>RET</i>	3		1	4
<i>PIK3CA</i>	5			5
<i>APC</i>			1	1
<i>KRAS</i>	1			1
<i>CDKN2A</i>	1		1	2
<i>MET</i>			2	2
Absolutní počet	<b>29</b>	<b>2</b>	<b>17</b>	<b>48</b>
Relativní počet	<b>60.4 %</b>	<b>4.2 %</b>	<b>35.4 %</b>	<b>100 %</b>

**Tab. 12. Absolutní počty typů mutací jednotlivých genů při nastavení detekce 10 % mutovaných alel na pozadí genomické DNA Tabulka zahrnuje pouze geny, u nichž byla zachycena mutace alespoň v jednom případě.**

<b>Gen</b>	<b>Missense</b>	<b>Nonsense</b>	<b>Frameshift</b>	<b>Celkem</b>
<i>MLH1</i>		1		1
<i>MSH6</i>			9	9
<i>TP53</i>	17	2	3	22
<i>ARID1</i>	1		5	6
<i>ERBB2</i>	3		4	7
<i>SMAD4</i>	1		1	2
<i>BRCA1</i>	1		1	2
<i>BRCA2</i>	1	1	4	6
<i>PTEN</i>			2	2
<i>RET</i>	4		2	6
<i>PIK3CA</i>	7			7
<i>APC</i>			2	2
<i>KRAS</i>	1			1
<i>GNAS</i>	1			1
<i>CDKN2A</i>	1		1	2
<i>MET</i>			2	2
<i>GNAQ</i>			1	1
<i>PDGFRA</i>	1			1
Absolutní počet	<b>39</b>	<b>4</b>	<b>37</b>	<b>80</b>
Relativní počet	<b>48.7 %</b>	<b>5 %</b>	<b>46.2 %</b>	<b>100 %</b>

**Tab. 13. Absolutní počty typů mutací jednotlivých genů při nastavení detekce 5 % mutovaných alel na pozadí genomické DNA. Tabulka zahrnuje pouze geny, u nichž byla zachycena mutace alespoň v jednom případě.**

## 10. Závěr

V současné době je možné léčit adenokarcinomy gastroesofageální junkce podle výsledků klinických studií i mezinárodních léčebných doporučení jako karcinomy jícnu i jako karcinomy žaludku. Z naší retrospektivní studie vyplývá, že předoperační chemoradioterapie je u pacientů s adenokarcinomy GEJ a žaludku spojena s podobnými výsledky přežití jako u pacientů s adenokarcinomem distálního jícnu. Naopak histologický typ adenokarcinomu (podle Laurénovy klasifikace), stupeň diferenciacce, nepřítomnost/přítomnost angioinvaze a perineurální invaze, klinické T-stadium před léčbou (ale nikoli klinické N-stadium před léčbou) a patologické ypN-stadium mohou předpovídat prognózu pacienta lépe než primární umístění nádoru.

Morfologická a molekulárně biologická rozmanitost adenokarcinomů distálního jícnu, gastroesofageální junkce a žaludku na základě retrospektivních analýz a post hoc analýz významných klinických studií přivádí postupně odbornou veřejnost k názoru, že do rozhodování o léčebné strategii budou zasahovat prediktivní faktory z oblasti molekulární biologie. Minimálně by některé vybrané faktory měly být zahrnuty mezi stratifikační kritéria nových studií.

Nejznámější navržené nové molekulárně biologické klasifikace (162, 164) jsou pro klinickou praxi poměrně náročné z hlediska vybavení laboratoří, personálního vybavení, času i nákladů. Jistě je třeba hledat klasifikaci, která by rozlišila nádory na základě dostupnějších metod. Jak potvrdila naše laboratorní studie, pro mutační analýzy DNA jsou vzorky nádorové tkáně uložené v parafínu použitelné, pokud není doba archivace příliš dlouhá.

U řady jiných maligních onemocnění se ale již molekulárně biologické analýzy nádorů staly základem pro rozhodování dalšího léčebného postupu v rámci tzv. personalizované medicíny, jejíž cílem je poskytnutí správné léčby správnému pacientovi. Lze proto logicky předpokládat, že personalizovaná medicína v budoucnu ovlivní i volbu léčby u adenokarcinomů gastroesofageální oblasti.

## 11.Literatura

1. Lochman P, Dušek T, Páral J. Ezofagogastrická junkce a její nádory – poznámky k definici a klasifikaci. *Cas Lek Cesk.* 2018; 157: 84-89.
2. Vaughan TL, Davis S, Kristal A, Thomas DB. Obesity, alcohol, and tobacco as risk factors for cancers of the esophagus and gastric cardia: adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1995; 4: 85-92.
3. Lagergren J, Bergström R, Lindgren A, Nyrén O. The role of tobacco, snuff and alcohol use in the aetiology of cancer of the oesophagus and gastric cardia. *Int J Cancer.* 2000; 85: 340-346.
4. Laurén P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1965; 64: 31-49.
5. WHO Tumours Classification Editorial Board (editor). Digestive System Tumours. WHO Classification of Tumours, 5th ed.; vol. 1, pp. 85–95, vydala World Health Organization 2019.
6. Siewert JR, Hölscher AH, Becker K, Gössner W. Cardia cancer: attempt at a therapeutically relevant classification. *Chirurg.* 1987; 58: 25-32.
7. Siewert JR, Stein HJ. Carcinoma of the cardia: carcinoma of the gastroesophageal junction-classification, pathology and extent of resection. *Dis Esophagus* 1996; 9: 173–182.
8. Siewert JR, Feith M, Werner M, Stein HJ. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: results of surgical therapy based on anatomical/topographic classification in 1,002 consecutive patients. *Ann Surg.* 2000; 232 (3): 353-61.
9. Sobin LH, Wittekind C (eds). TNM klasifikace zhoubných novotvarů. 6. vyd. 2002, česká verze 2004. Praha: ÚZIS ČR 2004.
10. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C (eds). TNM klasifikace zhoubných novotvarů. 7. vyd. 2009, česká verze 2011. Praha: ÚZIS ČR 2011.
11. Brierley JD., Gospodarowicz MK, Wittekind C. (eds). TNM klasifikace zhoubných novotvarů. 8. vyd. 2017, česká verze 2017. Praha: ÚZIS ČR 2018.

12. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. Novotvary 2016/ Cancer Incidence in the Czech Republic, 2016. Vydal Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, Praha 2019.
13. Dušek L, Mužík J, Kubásek M, Koptíková J, Žaloudík J, Vyzula R. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice (online). Masarykova univerzita 2005. Dostupné: <http://www.svod.cz> (cit. 2020-6-09).
14. Pohl H, Welch HG. The role of overdiagnosis and reclassification in the marked increase of esophageal adenocarcinoma incidence. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97: 142-146.
15. Kort EJ, Sevensma E, Fitzgerald TL. Trends in esophageal cancer and body mass index by race and gender in the state of Michigan. *BMC Gastroenterol.* 2009; 9: 47.
16. Stewart C, Chao J, Chen YJ, Lin J, Sullivan MJ, Melstrom L, et al. Multimodality management of locally advanced gastric cancer-the timing and extent of surgery. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2019; 4: 42.
17. Garg PK, Sharma J, Jakhetiya A, Goel A, Gaur MK. Preoperative therapy in locally advanced esophageal cancer. *World J Gastroenterol.* 2016; 22: 8750-8759.
18. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, NCCN Guidelines Version 2.2020. Esophageal and Esophagogastric Junction Cancer. Dostupné: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/esophageal.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/esophageal.pdf) (cit. 2020-6-09).
19. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, NCCN Guidelines Version 2.2020. Gastric Cancer. Dostupné: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/gastric.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/gastric.pdf) (cit. 2020-6-09).
20. Lordick F, Mariette C, Haustermans K, Obermannová R, Arnold D. ESMO guidelines committee. Oesophageal cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2016; 27: v50-v57.
21. Smyth EC, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D; ESMO Guidelines Committee. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2016; 27 (Suppl 5): v38-v49. November 2019 eUpdate – Gastric Cancer Treatment Recommendations. Dostupné: <https://www.esmo.org/guidelines/gastrointestinal-cancers/gastric-cancer/eupdate-gastric-cancer-treatment-recommendations2> (cit. 2020-6-09)

22. Modrá kniha České onkologické společnosti, 26. vydání. Vydal Masarykův onkologický ústav, 2020, Brno. Dostupné: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/diagnostika-a-lecba/modra-kniha-cos/aktualni-vydani-modre-knihy/> (cit. 2020-6-09).
23. Národní radiologické standardy – radiační onkologie (2016). Věstník Ministerstva zdravotnictví České republiky, Ročník 2016, Částka 2. Dostupné: <http://www.mzcr.cz/Legislativa/Soubor.ashx?souborID=36103&typ=application/pdf&nazev=V%C4%9Bstn%C3%ADk%20MZ%20%C4%8CR%202-2016.pdf>. (cit. 2020-6-09)
24. Shah MA, Kennedy EB, Catenacci DV, Deighton DC, Goodman KA, Malhotra NK, et al. Treatment of Locally Advanced Esophageal Carcinoma: ASCO Guideline. *J Clin Oncol*. 2020: JCO2000866.
25. Urschel JD, Vasani H. A meta-analysis of randomized controlled trials that compared neoadjuvant chemoradiation and surgery to surgery alone for resectable esophageal cancer. *Am J Surg*. 2003; 185: 538-543.
26. Fiorica F, Di Bona D, Schepis F, Licata A, Shahied L, Venturi A, et al. Preoperative chemoradiotherapy for oesophageal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gut*. 2004; 53: 925-30.
27. Gebski V, Burmeister B, Smithers BM, Foo K, Zalcborg J, Simes J. Survival benefits from neoadjuvant chemoradiotherapy or chemotherapy in oesophageal carcinoma: a metaanalysis. *Lancet Oncol* 2007; 8: 226-234.
28. van Hagen P, Hulshof MC, van Lanschot JJ, Steyerberg EW, van Berge Henegouwen MI, Wijnhoven BP, et al.; CROSS Group. Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer. *N Engl J Med*. 2012; 366: 2074-2084.
29. Shapiro J, van Lanschot JJ, Hulshof MC, van Hagen P, van Berge Henegouwen MI, Wijnhoven BP, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy plus surgery versus surgery alone for oesophageal or junctional cancer (CROSS): long-term results of a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2015; 16: 1090-1098.
30. Coombes RC, Schein PS, Chilvers CE, Wils J, Beretta G, Bliss JM, et al. A randomized trial comparing adjuvant fluorouracil, doxorubicin, and mitomycin with no treatment in



- operable gastric cancer. International Collaborative Cancer Group. *J Clin Oncol.* 1990; 8: 1362-1369.
31. Hallissey MT, Dunn JA, Ward LC, Allum WH. The second British Stomach Cancer Group trial of adjuvant radiotherapy or chemotherapy in resectable gastric cancer: five-year follow-up. *Lancet.* 1994; 343: 1309-1312.
  32. Macdonald JS, Fleming TR, Peterson RF, Berenberg JL, McClure S, Chapman RA, et al. Adjuvant chemotherapy with 5-FU, adriamycin, and mitomycin-C (FAM) versus surgery alone for patients with locally advanced gastric adenocarcinoma: A Southwest Oncology Group study. *Ann Surg Oncol.* 1995; 2: 488-494.
  33. Bajetta E, Buzzoni R, Mariani L, Beretta E, Bozzetti F, Bordogna G, et al. Adjuvant chemotherapy in gastric cancer: 5-year results of a randomised study by the Italian Trials in Medical Oncology (ITMO) Group. *Ann Oncol.* 2002; 13: 299-307.
  34. Bouché O, Ychou M, Burtin P, Bedenne L, Ducreux M, Lebreton G, et al.; Fédération Francophone de Cancérologie Digestive Group. Adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil and cisplatin compared with surgery alone for gastric cancer: 7-year results of the FFCD randomized phase III trial (8801). *Ann Oncol.* 2005; 16: 1488-1497.
  35. Nitti D, Wils J, Dos Santos JG, Fountzilas G, Conte PF, Sava C, et al.; EORTC GI Group; ICCG. Randomized phase III trials of adjuvant FAMTX or FEMTX compared with surgery alone in resected gastric cancer. A combined analysis of the EORTC GI Group and the ICCG. *Ann Oncol.* 2006; 17: 262-269.
  36. De Vita F, Giuliani F, Orditura M, Maiello E, Galizia G, Di Martino N, et al.; Gruppo Oncologico Italia Meridionale. Adjuvant chemotherapy with epirubicin, leucovorin, 5-fluorouracil and etoposide regimen in resected gastric cancer patients: a randomized phase III trial by the Gruppo Oncologico Italia Meridionale (GOIM 9602 Study). *Ann Oncol.* 2007; 18: 1354-1358.
  37. Di Costanzo F, Gasperoni S, Manzione L, Bisagni G, Labianca R, Bravi S, et al. Adjuvant chemotherapy in completely resected gastric cancer: a randomized phase III trial conducted by GOIRC. *J Natl Cancer Inst.* 2008; 100: 388-398.
  38. Sasako M, Sakuramoto S, Katai H, Kinoshita T, Furukawa H, Yamaguchi T, et al. 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: 4387-4393.
39. Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T, Kinoshita T, Fujii M, Nashimoto A, et al.; ACTS-GC Group. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. *N Engl J Med.* 2007; 357: 1810-1820.
  40. Noh SH, Park SR, Yang HK, Chung HC, Chung IJ, Kim SW, et al.; CLASSIC trial investigators. Adjuvant capecitabine plus oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): 5-year follow-up of an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014; 15: 1389-1396.
  41. Bang YJ, Kim YW, Yang HK, Chung HC, Park YK, Lee KH, et al.; CLASSIC trial investigators. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trial. *Lancet.* 2012; 379: 315-321.
  42. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, et al., MAGIC Trial Participants. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med.* 2006; 355: 11-20.
  43. Ychou M, Boige V, Pignon JP, Conroy T, Bouché O, Lebreton G, et al. Perioperative chemotherapy compared with surgery alone for resectable gastroesophageal adenocarcinoma: an FNCLCC and FFCD multicenter phase III trial. *J Clin Oncol.* 2011; 29: 1715-1721.
  44. Al-Batran SE, Homann N, Pauligk C, Goetze TO, Meiler J, Kasper S, et al.; FLOT4-AIO Investigators. Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomised, phase 2/3 trial. *Lancet.* 2019; 393: 1948-1957.
  45. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, Hundahl SA, Estes NC, Stemmermann GN, et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med.* 2001; 345: 725-730.
  46. Smalley SR, Benedetti JK, Haller DG, Hundahl SA, Estes NC, Ajani JA, et al. Updated analysis of SWOG-directed intergroup study 0116: a phase III trial of adjuvant

- radiochemotherapy versus observation after curative gastric cancer resection. *J Clin Oncol.* 2012; 30: 2327-2333.
47. Cats A, Jansen EPM, van Grieken NCT, Sikorska K, Lind P, Nordsmark M, et al.; CRITICS investigators; CRITICS investigators. Chemotherapy versus chemoradiotherapy after surgery and preoperative chemotherapy for resectable gastric cancer (CRITICS): an international, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018; 19: 616-628.
  48. Ajani JA, Winter K, Okawara GS, Donohue JH, Pisters PW, Crane CH, et al. Phase II trial of preoperative chemoradiation in patients with localized gastric adenocarcinoma (RTOG 9904): quality of combined modality therapy and pathologic response. *J Clin Oncol.* 2006; 24: 3953-3958.
  49. Lowy AM, Feig BW, Janjan N, Rich TA, Pisters PW, Ajani JA, Mansfield PF. A pilot study of preoperative chemoradiotherapy for resectable gastric cancer. *Ann Surg Oncol.* 2001; 8: 519-524.
  50. Ajani JA, Mansfield PF, Janjan N, Morris J, Pisters PW, Lynch PM, et al. Multi-institutional trial of preoperative chemoradiotherapy in patients with potentially resectable gastric carcinoma. *J Clin Oncol.* 2004; 22: 2774-2780.
  51. Klautke G, Foitzik T, Ludwig K, Ketterer P, Klar E, Fietkau R. Neoadjuvant radiochemotherapy in locally advanced gastric carcinoma. *Strahlenther Onkol.* 2004; 180(11): 695-700.
  52. Wydmański J, Suwinski R, Poltorak S, Maka B, Miszczyk L, Wolny E, et al. The tolerance and efficacy of preoperative chemoradiotherapy followed by gastrectomy in operable gastric cancer, a phase II study. *Radiother Oncol.* 2007; 82: 132-136.
  53. Reed VK, Krishnan S, Mansfield PF, Bhosale PR, Kim M, Das P, et al. Incidence, natural history, and patterns of locoregional recurrence in gastric cancer patients treated with preoperative chemoradiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008; 71: 741-747.
  54. Rivera F, Galán M, Taberero J, Cervantes A, Vega-Villegas ME, Gallego J, et al.; Spanish Cooperative Group for Digestive Tumor Therapy. Phase II trial of preoperative irinotecan-cisplatin followed by concurrent irinotecan-cisplatin and radiotherapy for resectable locally advanced gastric and esophagogastric junction adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009; 75: 1430-1436.

55. Díaz-González JA, Rodríguez J, Hernández-Lizoain JL, Ciérvide R, Gaztañaga M, San Miguel I, et al. Patterns of response after preoperative treatment in gastric\_cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011; 80: 698-704.
56. Chakravarty T, Crane CH, Ajani JA, Mansfield PF, Briere TM, Beddar AS, et al. Intensity-modulated radiation therapy with concurrent chemotherapy as preoperative treatment for localized\_gastric\_adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012; 83: 581-586.
57. Pepek JM, Chino JP, Willett CG, Palta M, Blazer Iii DG, Tyler DS, et al. Preoperative chemoradiotherapy for locally advanced gastric cancer. *Radiat Oncol.* 2013; 8: 6.
58. Rostom Y, Zaghoul H, Khedr G, El-Shazly W, Abd-Allah D. Docetaxel-based\_preoperative chemoradiation in localized\_gastric cancer: impact of pathological complete response on patient outcome. *J Gastrointest Cancer.* 2013; 44: 162-169.
59. Trip AK, Poppema BJ, van Berge Henegouwen MI, Siemerink E, Beukema JC, Verheij M, et al. Preoperative\_chemoradiotherapy in locally advanced\_gastric cancer, a phase I/II feasibility and efficacy study. *Radiother Oncol.* 2014; 112: 284-288.
60. Walsh TN, Noonan N, Hollywood D, Kelly A, Keeling N, Hennessy TP. A comparison of multimodal therapy and surgery for esophageal\_adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 1996; 335: 462-467.
61. Leong T, Smithers BM, Michael M, GebSKI V, Boussioutas A, Miller D, et al. TOPGEAR: a randomised phase III trial of perioperative ECF chemotherapy versus preoperative chemoradiation plus perioperative ECF chemotherapy for resectable gastric cancer (an international, intergroup trial of the AGITG/TROG/EORTC/NCIC CTG). *BMC Cancer.* 2015; 15: 532.
62. Stahl M, Walz MK, Stuschke M, Lehmann N, Meyer HJ, Riera-Knorrenschild J, et al. Phase III comparison of preoperative chemotherapy compared with chemoradiotherapy in patients with locally advanced adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *J Clin Oncol.* 2009; 27: 851-856.
63. Stahl M, Walz MK, Riera-Knorrenschild J, Stuschke M, Sandermann A, Bitzer M, et al. Preoperative chemotherapy versus chemoradiotherapy in locally advanced adenocarcinomas of the oesophagogastric junction (POET): Long-term results of a controlled randomised trial. *Eur J Cancer.* 2017; 81: 183-190.

64. Burmeister BH, Thomas JM, Burmeister EA, Walpole ET, Harvey JA, Thomson DB, et al. Is concurrent radiation therapy required in patients receiving preoperative chemotherapy for adenocarcinoma of the oesophagus? A randomised phase II trial. *Eur J Cancer*. 2011; 47: 354-360.
65. Komplexní onkologické centrum FN Hradec Králové. Standardní léčebný postup. Protokol pro léčbu karcinomu jícnu. Verze 2020.1. Dostupné: <https://www.fnhk.cz/fs2437/karcinom-jicnu-.pdf>. (cit. 2020-7-20)
66. Komplexní onkologické centrum FN Hradec Králové. Standardní léčebný postup. Protokol pro léčbu karcinomu žaludku. Verze 2020.1. Dostupné: <https://www.fnhk.cz/fs2448/karcinom-zaludku-.pdf>. (cit. 2020-7-20)
67. International Commission on Radiation Units and Measurements ICRU report 50: Prescribing, recording, and reporting photon beam therapy. International Commission on Radiation Units and Measurements, Washington, 1993.
68. International Commission on Radiation Units and Measurements ICRU report 62: Prescribing, recording, and reporting photon beam therapy (supplement to ICRU report 50). International Commission on Radiation Units and Measurements, Bethesda, 1999.
69. Han D, Yuan Y, Song X, Yu Y, Yu J. What Is the Appropriate Clinical Target Volume for Esophageal Squamous Cell Carcinoma? Debate and Consensus Based on Pathological and Clinical Outcomes. *J Cancer*. 2016; 7: 200-206.
70. Dong Y, Guan H, Huang W, Zhang Z, Zhao D, Liu Y, et al. Precise delineation of clinical target volume for crossing-segments thoracic esophageal squamous cell carcinoma based on the pattern of lymph node metastases. *J Thorac Dis*. 2015; 7: 2313-2320.
71. Vosmik M, Petera J, Sirak I, Hodek M, Paluska P, Dolezal J, Kopacova M. Technological advances in radiotherapy for esophageal cancer. *World J Gastroenterol*. 2010; 16: 5555-5564.
72. Zelefsky MJ, Fuks Z, Happersett L, Lee HJ, Ling CC, Burman CM, et al. Clinical experience with intensity modulated radiation therapy (IMRT) in prostate cancer. *Radiother Oncol*. 2000; 55: 241-249.

73. Odrážka K, Petera J, Zouhar M, Vosmik M, Vaculikova M, Dolezel M, et al. Clinical results of intensity-modulated radiation therapy (IMRT) for tumors of the head and neck region. *Neoplasma*. 2005; 52: 85-94.
74. Vošmik M, Odrážka K, Doležel M, Vaculíková M, Kordač P, Zouhar M, et al. IMRT with the use of simultaneous integrated boost in treatment of head and neck cancer: acute toxicity evaluation. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2006; 49: 167-173.
75. Vošmik M, Kordač P, Paluska P, Zouhar M, Petera J, Odrážka K, et al. IMRT using simultaneous integrated boost (66 Gy in 6 weeks) with and without concurrent chemotherapy in head and neck cancer - toxicity evaluation. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2008; 13: 86-95.
76. Wu AJ, Bosch WR, Chang DT, Hong TS, Jabbour SK, Kleinberg LR, et al. Expert Consensus Contouring Guidelines for Intensity Modulated Radiation Therapy in Esophageal and Gastroesophageal Junction Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2015; 92: 911-920.
77. Matzinger O, Gerber E, Bernstein Z, Maingon P, Haustermans K, Bosset JF, et al. EORTC-ROG expert opinion: radiotherapy volume and treatment guidelines for neoadjuvant radiation of adenocarcinomas of the gastroesophageal junction and the stomach. *Radiother Oncol*. 2009; 92: 164-175.
78. Wo JY, Yoon SS, Guimaraes AR, Wolfgang J, Mamon HJ, Hong TS. Gastric lymph node contouring atlas: A tool to aid in clinical target volume definition in 3-dimensional treatment planning for gastric cancer. *Pract Radiat Oncol*. 2013; 3: e11-e19.
79. Graham MV, Purdy JA, Emami B, Harms W, Bosch W, Lockett MA, Perez CA. Clinical dose-volume histogram analysis for pneumonitis after 3D treatment for non-small cell lung cancer (NSCLC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 45: 323-329.
80. Kwa SL, Lebesque JV, Theuws JC, Marks LB, Munley MT, Bentel G, et al. Radiation pneumonitis as a function of mean lung dose: an analysis of pooled data of 540 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998; 42: 1-9
81. Schallenkamp JM, Miller RC, Brinkmann DH, Foote T, Garces YI. Incidence of radiation pneumonitis after thoracic irradiation: Dose-volume correlates. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 67: 410-416



82. Giuranno L, Ient J, De Ruyscher D, Vooijs MA. Radiation-Induced Lung Injury (RILI). *Front Oncol.* 2019; 9: 877.
83. Gharzai L, Verma V, Denniston KA, Bhirud AR, Bennion NR, Lin C. Radiation Therapy and Cardiac Death in Long-Term Survivors of Esophageal Cancer: An Analysis of the Surveillance, Epidemiology, and End Result Database. *PLoS One* 2016; 11: e0158916
84. Frandsen J, Boothe D, Gaffney DK, Wilson BD, Lloyd S. Increased risk of death due to heart disease after radiotherapy for esophageal cancer. *J Gastrointest Oncol.* 2015; 6: 516-23.
85. Beukema JC, van Luijk P, Widder J, Langendijk JA, Muijs CT. Is cardiac toxicity a relevant issue in the radiation treatment of esophageal cancer. *Radiother Oncol.* 2015; 114: 85-90.
86. Ogino I, Watanabe S, Iwahashi N, Kosuge M, Sakamaki K, Kunisaki C, et al. Symptomatic radiation-induced cardiac disease in long-term survivors of esophageal cancer. *Strahlenther Onkol.* 2016; 192: 359-67.
87. Vošmik M, Hodek M, Buka D, Sýkorová P, Grepl J, Paluska P, et al. Cardiotoxicity of radiation therapy in esophageal cancer. *Rep Pract Oncol Radiother.* 2020; 25: 318-322.
88. Foukakis T, Lundell L, Gubanski M, Lind PA. Advances in the treatment of patients with gastric adenocarcinoma. *Acta Oncol.* 2007; 46: 277-285.
89. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al.; ToGA Trial Investigators. 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. *Lancet.* 2010; 376: 687-697.
90. Van Cutsem E, Bang YJ, Feng-Yi F, Xu JM, Lee KW, Jiao SC, et al. HER2 screening data from ToGA: targeting HER2 in gastric and gastroesophageal junction cancer. *Gastric Cancer.* 2015; 18: 476-484.
91. Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ, Dumitru F, Passalacqua R, Goswami C, et al; REGARD Trial Investigators. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an

- international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2014; 383: 31-39.
92. Wilke H, Muro K, Van Cutsem E, Oh SC, Bodoky G, Shimada Y, et al.; RAINBOW Study Group. Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW): a double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014; 15: 1224-1235.
  93. Fuchs CS, Doi T, Jang RW, Muro K, Satoh T, Machado M, et al. Safety and Efficacy of Pembrolizumab Monotherapy in Patients With Previously Treated Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: Phase 2 Clinical KEYNOTE-059 Trial. *JAMA Oncol*. 2018; 4: e180013.
  94. Shah MA, Kojima T, Hochhauser D, Enzinger P, Raimbourg J, Hollebecque A, et al. Efficacy and Safety of Pembrolizumab for Heavily Pretreated Patients With Advanced, Metastatic Adenocarcinoma or Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus: The Phase 2 KEYNOTE-180 Study. *JAMA Oncol*. 2019; 5: 546-550.
  95. Janjigian YY, Bendell J, Calvo E, Kim JW, Ascierto PA, Sharma P, et al. CheckMate-032 Study: Efficacy and Safety of Nivolumab and Nivolumab Plus Ipilimumab in Patients With Metastatic Esophagogastric Cancer. *J Clin Oncol*. 2018; 36: 2836-2844.
  96. Kojima T, Muro K, Francois E, Hsu CH, Moriwaki T, Kim SB, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy as second-line therapy for advanced esophageal cancer: The Phase 3 KEYNOTE-181 study. *J. Clin. Oncol*. 2019; 37 (4\_suppl), 2 (abstract).
  97. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med*. 2015; 372: 2509-2520.
  98. Petera J, Dvořák J, Melichar B, Kabeláč K, Zoul Z, Vobořil Z, Hazuková R. Chemoradiotherapy in neoadjuvant treatment of gastric cancer. *Klinicka Onkologie*. 2002; 15: 216-218.
  99. Dvorak J, Melichar B, Petera J, Kabela, K, Vosmik M, Vesely P, et al. Preoperative neoadjuvant chemoradiation for locally advanced gastric adenocarcinoma. *Rep Prac Oncol Radiother*. 2009; 14: 169–175.

100. Meta-Analysis Group In Cancer, Lévy E, Piedbois P, Buyse M, Pignon JP, Rougier P, Ryan L, et al. Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration schedule and prognostic factors. *J Clin Oncol*. 1998; 16: 3537-3541.
101. Mandard AM, Dalibard F, Mandard JC, Marnay J, Henry-Amar M, Petiot JF, et al. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. Clinicopathologic correlations. *Cancer*. 1994; 73: 2680-2686.
102. Orditura M, Galizia G, Di Martino N, Ancona E, Castoro C, Pacelli R, et al. Effect of preoperative chemoradiotherapy on outcome of patients with locally advanced esophagogastric junction adenocarcinoma-a pilot study. *Curr Oncol*. 2017; 21: 125-133.
103. Rohatgi PR, Mansfield PF, Crane CH, Wu TT, Sunder PK, Ross WA, et al. Surgical pathology stage by American Joint Commission on Cancer criteria predicts patient survival after preoperative chemoradiation for localized gastric carcinoma. *Cancer*. 2006; 107: 1475-1482.
104. Vošmik M, Laco J, Sirák I, Dvořák J, Lochman P, Hodek M, et al. Histopathologic Features are more Important Prognostic Factors than Primary Tumour Location in Gastro-oesophageal Adenocarcinoma Treated with Preoperative Chemoradiation and Surgery. *Pathol Oncol Res*. 2018; 24: 373-383.
105. Cheedella NK, Suzuki A, Xiao L, Hofstetter WL, Maru DM, Taketa T, et al. Association between clinical complete response and pathological complete response after preoperative chemoradiation in patients with gastroesophageal cancer: analysis in a large cohort. *Ann Oncol*. 2013; 24: 1262-1266.
106. Lockhart AC, Reed CE, Decker PA, Meyers BF, Ferguson MK, Oeltjen AR, et al.; American College of Surgeons Oncology Group. Phase II study of neoadjuvant therapy with docetaxel, cisplatin, panitumumab, and radiation therapy followed by surgery in patients with locally advanced adenocarcinoma of the distal esophagus (ACOSOG Z4051). *Ann Oncol*. 2014; 25: 1039-1044.
107. Badgwell B, Blum M, Estrella J, Chiang YJ, Das P, Matamoros A, et al. Predictors of survival in patients with resectable gastric cancer treated with preoperative chemoradiation therapy and gastrectomy. *J Am Coll Surg*. 2015; 221: 83-90.

108. Chen YC, Fang WL, Wang RF, Liu CA, Yang MH, Lo SS, et al. Clinicopathological Variation of Laurén Classification in Gastric Cancer. *Pathol Oncol Res.* 2016; 22: 197-202.
109. Voron T, Messenger M, Duhamel A, Lefevre J, Mabrut JY, Goere D, et al. Is signet-ring cell carcinoma a specific entity among gastric cancers? *Gastric Cancer.* 2016; 19: 1027-1040.
110. Tianhang L, Guoen F, Jianwei B, Liye M. The effect of perineural invasion on overall survival in patients with gastric carcinoma. *J Gastrointest Surg.* 2008; 12: 1263-1267.
111. Bilici A, Seker M, Ustaalioglu BB, Kefeli U, Yildirim E, Yavuzer D, et al. Prognostic significance of perineural invasion in patients with gastric cancer who underwent curative resection. *Ann Surg Oncol.* 2010; 17: 2037-2044.
112. Selçukbiricik F, Tural D, Büyükkunal E, Serdengeçti S. Perineural invasion independent prognostic factors in patients with gastric cancer undergoing curative resection. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012; 13: 3149-3152.
113. De Franco L, Marrelli D, Voglino C, Vindigni C, Ferrara F, Di Mare G, et al. Prognostic Value of Perineural Invasion in Resected Gastric Cancer Patients According to Lauren Histotype. *Pathol Oncol Res.* 2018; 24: 393-400.
114. Woodham BL, Chmelo J, Donohoe CL, Madhavan A, Phillips AW. Prognostic Significance of Lymphatic, Venous and Perineural Invasion After Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Gastric Adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2020; 27: 3296-3304.
115. Deng J, You Q, Gao Y, Yu Q, Zhao P, Zheng Y, et al. Prognostic value of perineural invasion in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014; 9: e88907.
116. Patel AK, Pan X, Vila DM, Frankel WL, Chen W, Perry KA, et al. Perineural invasion predicts for locoregional failure in patients with oesophageal adenocarcinoma treated with neoadjuvant chemoradiotherapy. *J Clin Pathol.* 2020: jclinpath-2020-206424.
117. Schmidt SC, Schlechtweg N, Veltzke-Schlieker W, Thuss-Patience P, Pratschke J, Neuhaus P, Schumacher G. Clinical and pathological prognostic factors for cancers of the esophagogastric junction. *Zentralbl Chir.* 2009; 134: 455-461.

118. Li F, Chen Z, Tan B, Liu Y, Zhao Q, Fan L, et al. Influential factors and prognostic analysis of blood vessel invasion in advanced gastric cancer. *Pathol Res Pract.* 2020; 216: 152727.
119. Sirak I, Petera J, Hatlova J, Vosmik M, Melichar B, Dvorak J, et al. Expression of p53, p21 and p16 does not correlate with response to preoperative chemoradiation in gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology.* 2009; 56: 1213-1218.
120. Sirak I, Petera J, Hatlova J, Vosmik M, Melichar B, Dvorak J, et al. Epidermal growth factor receptor as a predictor of tumor response to preoperative chemoradiation in locally advanced gastric carcinoma. *Strahlenther Onkol.* 2008; 184: 592-597.
121. Wagner AD, Grabsch HI, Mauer M, Marreaud S, Caballero C, Thuss-Patience P, et al. EORTC-1203-GITCG - the "INNOVATION"-trial: Effect of chemotherapy alone versus chemotherapy plus trastuzumab, versus chemotherapy plus trastuzumab plus pertuzumab, in the perioperative treatment of HER2 positive, gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma on pathologic response rate: a randomized phase II-intergroup trial of the EORTC-Gastrointestinal Tract Cancer Group, Korean Cancer Study Group and Dutch Upper GI-Cancer group. *BMC Cancer.* 2019; 19:494.
122. Kataoka K, Tokunaga M, Mizusawa J, Machida N, Katayama H, Shitara K, et al; Stomach Cancer Study Group/Japan Clinical Oncology Group. A randomized Phase II trial of systemic chemotherapy with and without trastuzumab followed by surgery in HER2-positive advanced gastric or esophagogastric junction adenocarcinoma with extensive lymph node metastasis: Japan Clinical Oncology Group study JCOG1301 (Trigger Study). *Jpn J Clin Oncol.* 2015; 45(11): 1082-1086.
123. Safran H, Winter KA, Wigle DA, DiPetrillo TA, Haddock MG, Hong TS. et al. Trastuzumab with trimodality treatment for esophageal adenocarcinoma with HER2 overexpression: NRG Oncology/RTOG 1010. *J. Clin. Oncol.* 2020; 38, (15\_suppl) 4500 (abstract).
124. Dušek M, Hadravský L, Černá K, Stehlík J, Švajdler M, Kokošková B, et al. Diagnóza Lynchova syndromu od patologa. *Klin Onkol.* 2016; 29: 180-186.
125. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58: 5248-5257.

126. Latham A, Srinivasan P, Kemel Y, Shia J, Bandlamudi C, Mandelker D, et al. Microsatellite Instability Is Associated With the Presence of Lynch Syndrome Pan-Cancer. *J Clin Oncol*. 2019; 37: 286-295.
127. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96: 8681-8686.
128. Poynter JN, Siegmund KD, Weisenberger DJ, Long TI, Thibodeau SN, Lindor N, et al; Colon Cancer Family Registry Investigators. Molecular characterization of MSI-H colorectal cancer by MLHI promoter methylation, immunohistochemistry, and mismatch repair germline mutation screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008; 17: 3208-3215.
129. Sinicrope FA, Sargent DJ. Molecular pathways: microsatellite instability in colorectal cancer: prognostic, predictive, and therapeutic implications. *Clin Cancer Res*. 2012; 18: 1506-1512.
130. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med*. 2003; 349: 247-257.
131. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 3219-3226.
132. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Mosconi S, Mandalà M, Cervantes A, Arnold D; ESMO Guidelines Working Group. Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013; 24 Suppl 6: vi64-72.
133. Andre T, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt CJ, et al. KEYNOTE-177: first-line, open-label, randomized, phase 3 study of pembrolizumab versus investigator-choice chemotherapy for mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high metastatic colorectal carcinoma. *J Clin Oncol*. 2020; 38 (18\_suppl): LBA4 (abstract).
134. Diaz L, Marabelle A, Kim TW, Geva R, Van Cutsem E, Andre T, et al. Efficacy of pembrolizumab in phase 2 KEYNOTE-164 and KEYNOTE-158 studies of



- microsatellite instability high cancers. *Ann Oncol* 2017; 28: suppl\_5. v122-v141 (abstract).
135. Fuchs CS, Doi T, Jang RW, Muro K, Satoh T, Machado M, et al. Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: Phase 2 clinical KEYNOTE-059 Trial. *JAMA Oncol*. 2018; 4: e180013.
  136. Marrelli D, Polom K, Pascale V, Vindigni C, Piagnerelli R, De Franco L, et al. Strong prognostic value of microsatellite instability in intestinal type non-cardia gastric cancer. *Ann Surg Oncol*. 2016; 23: 943–950.
  137. Haag GM, Czink E, Ahadova A, Schmidt T, Sisic L, Blank S, et al. Prognostic significance of microsatellite-instability in gastric and gastroesophageal junction cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Int J Cancer*. 2019; 144: 1697–1703.
  138. Hashimoto T, Kurokawa Y, Takahashi T, Miyazaki Y, Tanaka K, Makino T, et al. Predictive value of MLH1 and PD-L1 expression for prognosis and response to preoperative chemotherapy in gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2019; 22: 785–792.
  139. Kim SY, Choi YY, An JY, Shin HB, Jo A, Choi H, et al. The benefit of microsatellite instability is attenuated by chemotherapy in stage II and stage III gastric cancer: results from a large cohort with subgroup analyses. *Int J Cancer*. 2015; 137: 819–825.
  140. Beghelli S, de Manzoni G, Barbi S, Tomezzoli A, Roviello F, Di Gregorio C, et al. Microsatellite instability in gastric cancer is associated with better prognosis in only stage II cancers. *Surgery*. 2006; 139: 347–356.
  141. Shitara K, Özgüroğlu M, Bang YJ, Di Bartolomeo M, Mandalà M, Ryu MH, et al. Pembrolizumab versus paclitaxel for previously treated, advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (KEYNOTE061): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2018; 392: 123–133.
  142. Shitara K, Van Cutsem E, Bang YJ, Fuchs CS, Wyrwicz L, Lee KW, et al. First-line pembrolizumab versus chemotherapy in patients with advanced G/GEJ cancer demonstrates similar survival and HRQoL. *Ann Oncol*. 2019; 30 (suppl\_5): v851-v934.
  143. Oki E, Kakeji Y, Zhao Y, Yoshida R, Ando K, Masuda T, et al. Chemosensitivity and survival in gastric cancer patients with microsatellite instability. *Ann Surg Oncol*. 2009; 16: 2510–2515.

144. Miceli R, Di M, Morano F. Prognostic impact of microsatellite instability in Asian gastric cancer patients enrolled in the ARTIST trial; *Oncology*. 2019; 97: 38-43.
145. Fang WL, Chang SC, Lan YT, Huang KH, Lo SS, Li AF, et al. Molecular and survival differences between familial and sporadic gastric cancers. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 396272.
146. Dos Santos NR, Seruca R, Constância M, Seixas M, Sobrinho-Simões M. Microsatellite instability at multiple loci in gastric carcinoma: clinicopathologic implications and prognosis. *Gastroenterology*. 1996; 110: 38-44.
147. Fang WL, Chang SC, Lan YT, Huang KH, Chen JH, Lo SS, et al. Microsatellite instability is associated with a better prognosis for gastric cancer patients after curative surgery. *World J Surg*. 2012; 36: 2131-2138.
148. Zhu L, Li Z, Wang Y, Zhang C, Liu Y, Qu X. Microsatellite instability and survival in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *Mol Clin Oncol*. 2015; 3: 699–705.
149. Choi YY, Bae JM, An JY, Kwon IG, Cho I, Shin HB, et al. Is microsatellite instability a prognostic marker in gastric cancer? A systematic review with meta-analysis. *J Surg Oncol*. 2014; 110: 129–135.
150. Smyth EC, Wotherspoon A, Peckitt C, Gonzalez D, Hulkki-Wilson S, Eltahir Z, et al. Mismatch Repair Deficiency, Microsatellite Instability, and Survival: An Exploratory Analysis of the Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy (MAGIC) Trial. *JAMA Oncol*. 2017; 3: 1197-1203.
151. Choi YY, Kim H, Shin S-J, Kim HY, Lee J, Yang HK, et al. Microsatellite instability and programmed cell death-ligand 1 expression in stage II/III gastric cancer: post hoc analysis of the CLASSIC randomized controlled study. *Ann Surg*. 2019; 270: 309–316.
152. Pietrantonio F, Miceli R, Raimondi A, Kim YW, Kang WK, Langley RE, et al. Individual Patient Data Meta-Analysis of the Value of Microsatellite Instability As a Biomarker in Gastric Cancer. *J Clin Oncol*. 2019; 37: 3392-3400.
153. Lee J, Lim DH, Kim S, Park SH, Park JO, Park YS, et al. Phase III trial comparing capecitabine plus cisplatin versus capecitabine plus cisplatin with concurrent capecitabine radiotherapy in completely resected gastric cancer with D2 lymph node dissection: the ARTIST trial. *J Clin Oncol*. 2012; 30: 268-273.

154. Dai D, Zhao X, Li X, Shu Y, Shen B, Chen X, et al. Association Between the Microsatellite Instability Status and the Efficacy of Postoperative Adjuvant Chemoradiotherapy in Patients With Gastric Cancer. *Front Oncol.* 2020; 9: 1452.
155. Deng L, Liang H, Burnette B, Beckett M, Darga T, Weichselbaum RR, Fu YX. Irradiation and anti-PD-L1 treatment synergistically promote antitumor immunity in mice. *J Clin Invest.* 2014; 124: 687-695.
156. Kanagavelu S, Gupta S, Wu X, Philip S, Wattenberg MM, Hodge JW, et al. In vivo effects of lattice radiation therapy on local and distant lung cancer: potential role of immunomodulation. *Radiat Res.* 2014; 182: 149-162.
157. Zeng J, See AP, Phallen J, Jackson CM, Belcaid Z, Ruzevick J, et al. Anti-PD-1 blockade and stereotactic radiation produce long-term survival in mice with intracranial gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013; 86: 343-349.
158. Postow MA, Callahan MK, Barker CA, Yamada Y, Yuan J, Kitano S, et al. Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma. *N Engl J Med.* 2012; 366: 925-931.
159. Golden EB, Demaria S, Schiff PB, Chachoua A, Formenti SC. An abscopal response to radiation and ipilimumab in a patient with metastatic non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Res.* 2013; 1: 365-372.
160. Grimaldi AM, Simeone E, Giannarelli D, Muto P, Falivene S, Borzillo V, et al. Abscopal effects of radiotherapy on advanced melanoma patients who progressed after ipilimumab immunotherapy. *Oncoimmunology.* 2014; 3: e28780.
161. Roger A, Finet A, Boru B, Beauchet A, Mazon JJ, Otmeguin Y, et al. Efficacy of combined hypo-fractionated radiotherapy and anti-PD-1 monotherapy in difficult-to-treat advanced melanoma patients. *Oncoimmunology.* 2018; 7: e1442166.
162. Finazzi T, Rordorf T, Ikenberg K, Huber GF, Guckenberger M, Garcia Schueler HI. Radiotherapy-induced anti-tumor immune response and immune-related adverse events in a case of recurrent nasopharyngeal carcinoma undergoing anti-PD-1 immunotherapy. *BMC Cancer.* 2018; 18: 395.
163. Cancer Genome Atlas Research Network Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014; 513: 202–209.

164. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of oesophageal carcinoma. *Nature*. 2017; 541: 169-175.
165. Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, Kim KM, Ting JC, Wong SS, et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. *Nat Med*. 2015; 21: 449-456.
166. Vošmik M, Vošmiková H, Siegllová K, Sirák I, Laco J, Ryška A, et al. HPV Status and Mutation Analysis Using Multiparallel Sequencing in Distal Oesophageal and Gastro-oesophageal Junction Adenocarcinomas. *Folia Biol (Praha)*. 2018; 64: 41-45