

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Tatjana J. Arsenijević

PROGNOSTIČKI ZNAČAJ
TUMORSKE REGRESIJE I RECEPTORA
ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA U
BOLESNIKA SA UZNAPREDOVALIM
SKVAMOCELULARNIM KARCINOMOM
JEDNjAKA LEČENIH NEOADJUVANTNOM
HEMIO-RADIOTERAPIJOM

doktorska disertacija

Beograd, 2013.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Татјана Ј. Арсенијевић

ПРОГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ
ТУМОРСКЕ РЕГРЕСИЈЕ И РЕЦЕПТОРА
ЗА ЕПИДЕРМАЛНИ ФАКТОР РАСТА У
БОЛЕСНИКА СА УЗНАПРЕДОВАЛИМ
СКВАМОЦЕЛУЛАРНИМ КАРЦИНОМОМ
ЈЕДЊАКА ЛЕЧЕНИХ НЕОАДЈУВАНТНОМ
ХЕМИО-РАДИОТЕРАПИЈОМ

докторска дисертација

Београд, 2013.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Tatjana J. Arsenijević

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF
TUMOR REGRESSION GRADE AND EPIDERMAL
GROWTH FACTOR RECEPTOR IN LOCALLY
ADVANCED SQUAMOUS CELL ESOPHAGEAL
CANCER TREATED WITH NEOADJUVANT
CHEMORADIATION

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013.

Mentor:

Prof dr Ljiljana Radošević-Jelić, radiolog-onkolog
Redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, u penziji

Članovi komisije:

Akademik Predrag Peško, hirurg, Prva hirurška Univerzitetska klinika
Redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Dr sci med Marjan M. Micev, patolog, Prva hirurška Univerzitetska klinika
Profesor gastrointestinalne patologije po pozivu
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Doc dr sci med Marina Nikitović, radiolog, Institut za onkologiju i radiologiju Srbije
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Mojim roditeljima...

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. EPIDEMIOLOGIJA I ETIOLOGIJA KARCINOMA JEDNJAKA	3
1.2. DIJAGNOZA I STADIRANJE	7
1.2.1. T stadijum	11
1.2.2. N stadijum	12
1.2.3. M stadijum	13
1.3. TERAPIJSKI MODALITETI U LEČENJU LOKALNO UZNAPREDOVALOG KARCINOMA JEDNJAKA	16
1.3.1. HIRURGIJA	16
1.3.2. RADIOTERAPIJA	20
1.3.2.1. TRANSKUTANA RADIOTERAPIJA	22
1.3.2.2. INTRALUMINALNA BRAHITERAPIJA	29
1.3.2.3. KOMPLIKACIJE RADIOTERAPIJE	30
1.3.3. HEMIOTERAPIJA	32
1.3.4. KOMBINOVANA HEMIO-RADIOTERAPIJA	36
1.4. TUMORSKI REGRESIONI GRADUS (TRG)	42
1.5. PROGNOСТИČKI I PREDIKTIVNI FAKTORI	45
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	53
3. BOLESNICI I METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA	55
3.1. Kriterijumi za uključivanje bolesnika u studiju	55
3.2. Dijagnostičke procedure pre otpočinjanja terapije	56
3.3. Plan preoperativne hemio-radioterapije	56
3.3.1. Hemioterapija	57
3.3.2. Radioterapija	57
3.4. Evaluacija toksičnosti tretmana	59
3.5. Evaluacija odgovora na terapiju	61
3.6. Prognoštički i prediktivni faktori i molekularni markeri	61
3.6.1. Princip metode LSAB+/HRP	63
3.6.2. Procedura LSAB+/HRP	64

3.6.3.	Kontrola kvaliteta i specifičnosti imunohistohemijske reakcije ...	65
3.6.4.	Semikvantitativna procena imunoekspresije ispitivanih markera.....	65
3.7.	Hirurgija i histopatološka procena resektata	66
3.8.	Praćenje bolesnika	66
3.9.	Statistička analiza	67
3.10.	Etički komitet	68
4.	REZULTATI	69
4.1.	PRIKAZ BOLESNIKA	69
4.2.	EKSPRESIJA RECEPTORA ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA (EGFR) ...	75
4.3.	TOKSIČNOST TRETMANA	78
4.4.	KLINIČKA PROCENA ODGOVORA NA HEMIO-RADIOTERAPIJU	84
4.4.1.	Korelacija EGFR ekspresije i kliničkog odgovora na hemio-radioterapiju	87
4.5.	HIRURŠKA RESEKCIJA - evaluacija resektabilnosti	88
4.6.	TUMORSKI REGRESIONI GRADUS –analiza.....	90
4.6.1.	Korelacija EGFR ekspresije i tumorskog regresionog gradusa	94
4.7.	LOKALNA KONTROLA I RELAPS BOLESTI	94
4.7.1.	Lokalna kontrola i relaps bolesti u celoj grupi bolesnika	94
4.7.2.	Lokalna kontrola i relaps bolesti u grupi operisanih bolesnika ...	98
4.7.3.	Lokalna kontrola i relaps bolesti u grupi neoperisanih bolesnika.....	101
4.8.	PREŽIVLJAVANJE	105
4.8.1.	Analiza ukupnog preživljavanja (overall survival – OS).....	107
4.8.1.1.	Ukupno preživljavanje u odnosu na TRG	109
4.8.1.2.	Ukupno preživljavanje u odnosu na EGFR ekspresiju ...	110
4.8.2.	Analiza preživljavanja bez znakova bolesti (disease free survival – DFS)	111
4.8.2.1.	Preživljavanje bez znakova bolesti u odnosu na TRG ...	113

4.8.2.2. Preživljavanje bez znakova bolesti u odnosu na EGFR ekspresiju	113
4.8.3. Analiza vremena do progresije bolesti (time to progression – TTP).....	114
4.8.3.1. Vreme do progresije u odnosu na TRG	117
4.8.3.2. Vreme do progresije u odnosu na EGFR ekspresiju	118
5. DISKUSIJA	120
6. ZAKLJUČAK	144
7. LITERATURA	146
8. BIOGRAFIJA AUTORA	162
9. PRILOZI	163

PROGNOSTIČKI ZNAČAJ TUMORSKE REGRESIJE I RECEPTORA ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA U BOLESNIKA SA UZNAPREDOVALIM SKVAMOCELULARNIM KARCINOMOM JEDNJAKA LEČENIH NEOADJUVANTNOM HEMIO-RADIOTERAPIJOM

SAŽETAK

Rezultati brojnih studija ukazali su na to da bolesnici sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka kod kojih je hemio-radioterapija dovela do kompletnog histološkog odgovora imaju bolje preživljavanje. Međutim, svega 20-30% bolesnika ostvari kompletnu remisiju na račun visoke toksičnosti. Za sada, nema sigurnih markera predikcije odgovora na terapiju i prognoze preživljavanja ovih bolesnika.

Cilj našeg istraživanja je bio utvrđivanje nivoa ekspresije EGF receptora u preterapijskom histološkom uzorku karcinoma jednjaka, evaluacija kliničke i histopatološke regresije (TRG) nakon neoadjuvantne hemio-radioterapije, korelacija kliničke i histopatološke regresije sa preživljavanjem i vremenom do progresije kao i korelacija nivoa ekspresije EGFR sa odgovorom na hemio-radioterapiju, preživljavanjem i vremenom do progresije. Posebno je analizirana stopa resektabilnosti, lokalne kontrole i toksičnost tretmana.

Studija je dizajnirana kao prospektivna, multicentrična, nerandomizovana i obuhvatila je jednu grupu od 63 bolesnika sa histopatološki dokazanim lokalno uznapređovalim skvamocelularnim karcinomom jednjaka. Ekspresija EGFR markera je ispitivana imunohistohemijskim bojenjem u preterapijskom biospijskom uzorku tumora. Svim bolesnicima je aplikovana konkomitantna hemio-radioterapija. Bolesnici prevedeni u operabilni stadijum su ezofagektomisani. Histopatološka evaluacija resekovanog uzorka obuhvatala je proširenost tumora (ypTNM), rezidualni status i tumorski regresioni gradus (TRG).

Rezultati navedene studije pokazuju da skvamocelularni karcinom jednjaka ima visok nivo ekspresije EGFR. Stopa kliničkog odgovora nakon hemio-radioterapije iznosila je oko 50%, a resektabilnosti 37%. Kompletan patohistološki odgovor (TRG 1) iznosio je oko 26%. Ekspresija EGFR nije korelirala sa odgovorom na hemio-radioterapiju. Dodavanje hirurgije poboljšava lokalnu kontrolu bolesti, ukupno preživljavanje i vreme do progresije, ali ne utiče na udaljenu diseminaciju. Uočili smo statistički značajano češću pojava relapsa u grupi EGFR pozitivnih bolesnika, ali ni EGFR ni tumorski regresioni gradus nisu korelirali sa ukupnim preživljavanjem kao ni sa vremenom do progresije. Toksičnost tretmana je bila značajna.

Ključne reči: skvamocelularni karcinom jednjaka, hemio-radioterapija, EGFR, TRG

Naučna oblast: Onkologija, Patologija, Hirurgija

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF TUMOR REGRESSION GRADE AND EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR IN LOCALLY ADVANCED SQUAMOUS CELL ESOPHAGEAL CANCER TREATED WITH NEOADJUVANT CHEMORADIATION

ABSTRACT

The results of various studies imply better survival in patients with squamous cell esophageal who achieve complete patohistological response to chemoradiation. However, only 20-30% of patients will reach complete remission on behalf of great toxicity. Up to now, there are no distinctive predictive and prognostic markers that would suggest better response to treatment and survival of these patients.

The aim of our study was to determine EGFR expression in pretherapy esophageal cancer biopsy specimen, to evaluate clinical response and patohistological regression grade (TRG) to neoadjuvant chemoradiation, correlation of clinical and patohistological regression to survival and time to progression, as well as correlation of EGFR expression to response to chemoradiation, survival and time to progression. Resectability rate, local control and treatment toxicity were analyzed also.

The study was designed as prospective, multicentric and nonrandomized. Sixty three patients with histologically proven locally advanced squamous cell esophageal cancer were enrolled. EGFR expression was evaluated by immunohistochemical staining in a pretherapy tumor biopsy specimen. All patients received concomitant chemoradiotherapy. Patients converted to operable stage received surgery. Histological evaluation of resected specimen included tumor expansion, (ypTNM), residual stage and tumor regression grade (TRG).

The results of this study showed that squamous cell esophageal cancer had high EGFR expression. Clinical response rate was 50%, and resectability rate was 37%. Complete patohistologic response to chemoradiotherapy (TRG 1) was 26%. EGFR expression did not correlate with response to chemoradiation. Addition of surgery improved local control, overall survival and time to progression, but had no impact on distant failure. We noted significantly higher relaps rate in EGFR positive group of patients, but neither EGRF nor tumor regression grade correlated with overall survival and time to progression. Treatment toxicity was considerable.

Key words: squamous cell esophageal cancer, chemoradiation, EGFR, TRG

Science topic: Oncology, Pathology, Surgery

1. UVOD

Uprkos napretku u dijagnostici i terapiji, karcinom jednjaka se i dalje smatra agresivnim oboljenjem sa lošom prognozom. Iako relativno retko maligno oboljenje, širom sveta zauzima šesto mesto po broju smrtnih slučajeva. Sveukupno jednogodišnje preživljavanje ovih bolesnika iznosi oko 33%, a petogodišnje između 10% i 20%. Posebno nepovoljnu prognostičku kategoriju čine bolesnici sa lokalno uznapredovalim (T3-T4 i/ili N+) skvamocelularnim karcinomom jednjaka kod kojih je jednogodišnje i petogodišnje preživljavanje i ispod navedenih procenata.

Hirurška resekcija je dugo bila standard u lečenju karcinoma jednjaka. Međutim, petogodišnje preživljavanje radikalno operisanih bolesnika nije zadovoljavajuće, a lokalni i metastatski relaps se javljaju brzo i u visokom procentu čak i u ranom stadijumu bolesti. Štaviše, karcinom jednjaka se veoma često dijagnostikuje u stadijumu lokalno odmakle (T4, N+) ili metastatske bolesti gde je hirurški pristup značajno ograničen.

Izolovana primena radikalne zračne terapije ili hemioterapije u lokalnoj kontroli uznapredovalog karcinoma jednjaka dala je skromne rezultate. Razočaravajući rezultati individualnih tretmana usmerili su terapiju karcinoma jednjaka ka kombinovanim pristupima. Danas je kao standardni tretman bolesnika sa lokalno uznapredovalim karcinomom jednjaka prihvaćena kombinovana hemio-radioterapija sa ili bez hirurgije. Cilj kombinovane neoadjuvantne hemio i radioterapije je smanjenje veličine tumora (downsizing), povećanje stope hirurških resekcija i uklanjanje eventualnih nedetektibilnih mikrometastaza.

Rezultati brojnih studija ukazali su na poboljšanje stope preživljavanja bolesnika kod kojih je hemio-radioterapija dovela do kompletnog histološkog tumorskog odgovora kao i onih kod kojih je bila moguća radikalna makroskopska i mikroskopska (R0) resekcija. Multivarijantne analize su pokazale da je tumorski regresioni gradus (TRG) potencijalno najznačajniji prognostički faktor ukupnog preživljavanja i preživljavanja bez znakova bolesti, u korist visokog histološkog odgovora tumora. Međutim, iako trogodišnje preživljavanje ovih bolesnika iznosi

preko 60%, patohistološka kompletna remisija nakon kombinovanog lečenja postiže se samo u 20% do 40% slučajeva. To znači da veliki broj bolesnika prima intenzivnu terapiju na koju neće postići zadovoljavajući odgovor.

Agresivnost skvamocelularnog karcinoma jednjaka, njegova nepovoljna prognoza kao i individualni odgovor na kombinovano lečenje u velikoj meri može da se objasni biološkim karakteristikama samog tumora. Maligni fenotip tumora je određen poremećajima u ekspresiji molekularnih faktora neophodnih za normalan ćelijski ciklus, proliferativnu aktivnost i apoptozu kao što su: receptor za epidermalni faktor rasta (Epidermal Growth Factor Receptor-EGFR), vaskularni endotelni faktor rasta (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF), proliferativna aktivnost (MIB-1), kapilarna gustina (CD34) p21, p53, Ki-67, c-erbB-2 (HER-2/neu), Ku (p70/p80), DNK-PKcs, nuklearni faktor-kB (NF-kB), TS-1, GSTP1 i drugi. Neki od ovih biomarkera su dokazano značajni prognostički i prediktivni pokazatelji u drugim malignitetima kao što je na primer HER-2 kod karcinoma dojke, BCR-ABL u hroničnoj mijeloidnoj leukemiji, EGFR kod karcinoma pluća, mutacije u KRAS kod kolorektalnog karcinoma i slično. Za karcinom jednjaka, nažalost, i pored brojnih istraživačkih napora, za sada nema sigurnih bioloških markera predikcije patohistološkog odgovora, a još je manje markera prognoze preživljavanja. Njihova identifikacija danas je u žiži interesovanja obzirom da nam može pomoći u odabiru najboljeg terapijskog modaliteta za svakog bolesnika pojedinačno, a u cilju postizanja bolje lokalne kontrole bolesti, boljeg preživljavanja, smanjenja toksičnosti tretmana i očuvanja kvaliteta života.

1.1. EPIDEMIOLOGIJA I ETIOLOGIJA KARCINOMA JEDNJAKA

Sa preko 480 000 novootkrivenih slučajeva u 2008. godini, karcinom jednjaka zauzima osmo mesto po učestalosti malignog oboljenja u svetu, odnosno čini 4% ukupno dijagnostikovanih karcinoma. Po distribuciji smrtnosti od malignog oboljenja zauzima šesto mesto sa preko 410 000 smrtnih slučajeva zabeleženih u 2008. godini.

Veoma je interesantno zapažanje da distribucija incidence karcinoma jednjaka značajno varira širom sveta. Zemlje u razvoju su najugroženije brojeći osam od deset svih dijagnostikovanih slučajeva karcinoma jednjaka u svetu, odnosno 83%. Najviša incidenca zabeležena je u južnoj i istočnoj Africi i istočnoj Aziji, a najniža u zapadnoj i srednjoj Africi i centralnoj Americi (1). Čitavo područje visokog rizika koje se pruža od severne i centralne Kine i Kaspijskog jezera do severnog Irana naziva se „Azijski pojas karcinoma jednjaka“ gde incidenca iznosi preko 130 novoobolelih na 100 000 stanovnika godišnje (2, 3, 4). S druge strane, u zapadnim zemljama situacija je drugačija. U Velikoj Britaniji incidenca iznosi oko 7/100 000 (12,6 u Engleskoj i 5,9 u Velsu) (5), a u SAD oko 10 slučajeva na 100 000 stanovnika (13/100 000 stanovnika u crnoj populaciji) (6, 7).

Učestalost karcinoma jednjaka je više nego dvostruko veća kod muškaraca nego kod žena (2,4 : 1,0). Takođe, i u ovoj raspodeli učestalosti postoji izražena varijacija širom sveta. Što se tiče muškaraca, zemlje sa najvišom incidencom su Južna Afrika i Kina (24 odnosno 23/ 100 000 stanovnika respektivno), i Mongolija što se tiče žena (16/100 000 stanovnika).

Mortalitet karcinoma jednjaka prati geografsku distribuciju incidence. Najveća stopa mortaliteta je zabeležena u južnoj Africi (21 i 11 na 100 000 stanovnika za muškarce i žene respektivno) (Tabela 1) (1).

Tabela 1. Geografska distribucija incidence i mortaliteta karcinoma jednjaka

Region u svetu	Muškarci		Žene	
	Incidenca	Mortalitet	Incidenca	Mortalitet
Južna Afrika	22.3	21.4	11.7	1.1
Istočna Azija	20.3	16.2	8.3	6.4
Istočna Afrika	14.9	14.3	6.4	6.2
Svet	10.2	8.6	4.9	4.4
Severna Evropa	7.9	7.1	4.2	3.4
Južna-Centralna Azija	6.8	6.4	2.8	2.6
Zapadna Evropa	6.7	5.3	2.7	2.4
Južna Amerika	6.2	5.6	2.1	1.6
Centralna i istočna Evropa	5.6	5	1.8	1.5
Severna Amerika	5.6	4.9	1.6	1.5
Australija/Novi Zeland	5.1	4.8	1.5	1.1
Karibi	5	3.9	1.4	1.2
Južna Evropa	4	3.3	1.4	1.3
Zapadna Azija	3.8	3.6	1.2	1
Jugoistočna Azija	3	2.6	1	1
Centralna Amerika	2.1	1.8	0.8	0.6
Severna Afrika	2	2	0.8	0.6
Centralna Afrika	1.5	1.4	0.8	0.8
Zapadna Afrika	1.4	1.4	0.7	0.6

Karcinom jednjaka je prevashodno bolest starije životne dobi i retko se javlja pre 25 godine života. Sa starenjem rizik od pojave ovog oboljenja raste, te prosečna starost u momentu postavljanja dijagnoze iznosi između 60 i 70 godina. Smrtnost od karcinoma jednjaka sa godinama raste takođe, dostižući medijanu u šestoj deceniji života. U ovoj statistici posebnu kategoriju čine Američki crnci kod kojih se karcinom jednjaka javlja značajno češće u mlađem uzrastu i predstavlja jedan od najčešćih maligniteta kod muškaraca ispod 55 godina starosti (4, 6, 7).

Skvamocelularni karcinom i adenokarcinom su dva glavna histološka tipa karcinoma jednjaka, dok se ostale histološke forme (melanomi, lejomiosarkomi, karcinoidi i limfomi) javljaju sporadično. Na zapadu, 70-ih godina prošlog veka, preko 90% dijagnostikovanih karcinoma jednjaka bilo je skvamocelularne histologije. Danas, u Americi i zapadnoj Evropi postoji trend porasta incidence adenokarcinoma na preko 50% svih dijagnostikovanih slučajeva, dok incidenca

skvamocelularnog karcinoma stagnira ili opada. Ovaj porast incidence adenokarcinoma objašnjava se učestalom pojavom gojaznosti i prekomerne težine, gastro-ezofagealnog refluksa i pušenja koji vode u Barrett-ovu bolest jednjaka, najznačajniji faktor rizika (8, 9). U područjima visokog rizika za karcinom jednjaka, s druge strane, preko 90% slučajeva čini skvamocelularni karcinom jednjaka. Tako populacija „Azijskog pojasa“ ima 200 puta veću verovatnoću pojave skvamocelularnog karcinoma jednjaka nego drugi regioni sveta (10). Glavni faktori rizika za pojavu ovog oboljenja još uvek nisu jasno definisani, ali se nameću loš socio-ekonomski, a samim tim, i loš nutritivni status, nizak unos voća i povrća, sideropenijska anemija (Plummer-Vinson-ov sindrom), konzumiranje vrelih napitaka, ukiseljenih proizvoda kao i hronična iritacija i staza (ahalazija, strikture). Studije u Evropi, Americi, Južnoj Africi, severoistočnoj Kini i Hong Kongu ukazale su na jaku korelaciju pojave skvamocelularnog karcinoma jednjaka i pušenja kao i konzumiranja alkoholnih pića (5, 7, 8, 11). U SAD i Evropi, preko 90% svih dijagnostikovanih skvamocelularnih karcinoma jednjaka je povezano sa alkoholom i pušenjem, a kao faktori rizika navode se i u Azijskim zemljama. Kao posebno rizična grupa među pušačima izdvajaju se oni koji puše na lulu, ručno zavijaju duvan ili uživaju cigarete sa visokim sadržajem katrana.

Međutim, opšte je prihvaćeno da karcinom jednjaka nastaje kao postepen proces uslovljen i genetskim kao i epigenetskim faktorima (12). Već je napomenuta specifična regionalna distribucija ovog oboljenja koja sigurno ne može isključiti genetsku predispoziciju. U prilog toj tezi stoji i šest puta veća učestalost skvamocelularnog karcinoma kod crne rase u odnosu na belce, kod kojih se češće javlja adenokarcinom (6). Nažalost, kompleksna mreža molekularnih alteracija u osnovi nastanka i progresije skvamocelularnog karcinoma jednjaka nije do kraja otkrivena. Serija histopatoloških promena koje vode u ovo oboljenje uključuju ezofagitis, atrofiju sluznice, umerenu do tešku displaziju epitela, karcinom in situ i konačno invazivni karcinom. Genetski poremećaji koji se dovode u vezu sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka uključuju mutaciju u p53 genu, disrupciju kontrole ćelijskog ciklusa u G1 fazi (inaktivacijom p16MTS1, amplifikacijom ciklina

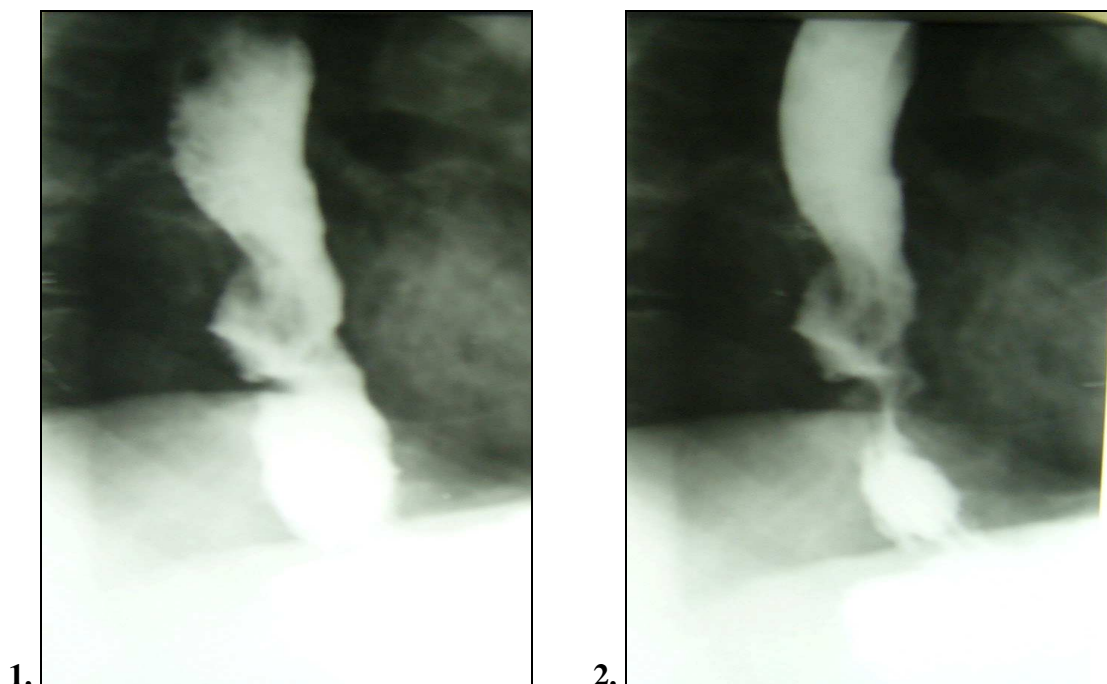
D1, alteracijom retinoblastoma gena), aktivacijom onkogeni (receptora za epidermalni faktor rasta-EGFR, c-MYC) i inaktivacijom pojedinih tumor supresor gena (10). Iako su u pojedinim zemljama registrovani porodični klasteri karcinoma jednjaka, za sada se samo tiloza smatra priznatim familijarnim sindromom koji predisponira skvamocelularni karcinom jednjaka. Tiloza je retko autozomno dominantno oboljenje uslovljeno genetskim poremećajem na nivou hromozoma 17q25. Manifestuje se hiperkeratozom dlanova i tabana, papilomatozom jednjaka i zadebljanjem oralne mukoze i nosi 95% rizik od skvamocelularnog karcinoma jednjaka do 70 godine starosti (13, 14).

1.2. DIJAGNOZA I STADIRANJE

Rani karcinom jednjaka je obično asimptomatski, mada ulcerativne lezije mogu ponekad biti prezentovane simptomima gastrointestinalnog krvarenja kao što su melena, ili hipohromna anemija ili se tragovi krvi mogu naći pregledom stolice na okultno krvarenje. Nažalost, za sada ne postoji široko prihvaćena skrining metoda, iako su pojedini pacijenti povećanog rizika za ovo oboljenje i kandidati za endoskopsko praćenje. U zemljama niskog rizika za karcinom jednjaka broj dijagnostikovanih slučajeva nije dovoljno velik da bi se skriningom obuhvatila cela populacija. S druge strane, u severnoj Kini, zemlji visokog rizika, stanovništvo se podvrgava skriningu abrazivnom balon citologijom. Prilikom izvođenja ove metode, balon prekriven mrežicom se proguta, zatim naduva i izvlači kroz jednjak. Dobijeni citološki materijal se dalje analizira, a pozitivan test se definitivno proverava endoskopijom sa biopsijom. U Americi je ova metoda sprovedena u viskorizičnoj populaciji (pušači i uživaoci alkoholnih pića), ali nije dala očekivane rezultate. Nešto veći uspeh je postignut endoskopskim pregledom uz bojenje sluznice jednjaka Lugolovim rastvorom. Jod u Lugolovom rastvoru vezuje se za glikogen u normalnim ćelijama pločasto-slojevitog epitela bojeći ih u tamno braon boju. Područja narušene arhitektonike epitela ostaju slabo obojena i pogodna za ciljanu biopsiju. Ovom metodom moguće je dijagnostikovati displaziju i rani skvamocelularni karcinom koji bi standardnim pregledom ostao neotkriven (15-19).

Većina pacijenata se, ipak, javlja lekaru u simptomatskoj fazi bolesti. Skoro tri četvrtine bolesnika sa karcinomom jednjaka (74%) ima izraženu disfagiju, a 17% odinofagiju u momentu postavljanja dijagnoze. Gubitak na težini se javlja u preko 50% slučajeva, a smatra se i nezavisnim indikatorom loše prognoze ukoliko je taj gubitak preko 10% telesne mase. Dispnea, kašalj, promuklost i bol u grudnom košu ili leđima se javljaju ređe, ali često ukazuju na uznapredovalu bolest. Limfadenopatija, posebno supraklavikularna (Virhofljeva žlezda), hepatomegalija i pleuralni izliv ukazuju na metastatsku bolest (7, 15, 20).

Barijumska ezofagografija vrlo često predstavlja inicijalnu dijagnostičku metodu kojom se verifikuje tipična slika karcinoma jednjaka (prekid kontinuiteta konture zida jednjaka, neravna kontura, razoren reljef sluznice, znak „ramenca“ na mestima gde tumor infiltriše normalnu sluznicu) (slika 1 i 2) (21, 22).



**Slika 1 i 2. Ezofagografija sa barijumom
karcinom jednjaka
(ljubaznošću Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije)**

Iako ezofagografija ima istu specifičnost za karcinom jednjaka (23) kao i endoskopski pregled, dijagnoza karcinoma jednjaka uvek mora biti potvrđena endoskopski. Fleksibilna fiberoptička endoskopija omogućava ne samo vizualizaciju suspektne promene već i uzimanje biopsije za histopatološku verifikaciju neophodnu za postavljanje dijagnoze (slika 3) (7).



Slika 3. Fleksibilna fiberoptička endoskopija-karcinom jednjaka (7)

Histopatološkom analizom biopsiranog materijala određuje se histološki tip karcinoma jednjaka i njegov histološki gradus. Kao što je navedeno, postoje dva osnovna histološka tipa karcinoma jednjaka: skvamocelularni karcinom (90% slučajeva) i adenokarcinom (8-10% slučajeva). Ostale histološke forme kao što su melanomi, lejomiosarkomi, karcinoidi, karcinosarkomi i limfomi javljaju se u 1-2% slučajeva (7).

Histološki gradus tumora je značajna kategorija i označava stepen diferentovanosti tumora, a zasniva se na obliku, izgledu žlezda, ćelija i jedara. Sistem Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization-WHO) ima pet različitih stepena za gradiranje diferentovanosti tumorskih ćelija:

Gx-stepen diferentovanosti ne može biti procenjen

G1-dobro diferentovan tumor

G2-srednje diferentovan tumor

G3-slabo diferentovan tumor

G4-nediferentovan (anaplastični) tumor (24)

Kada se jednom postavi dijagnoza karcinoma jednjaka od suštinske je važnosti precizno stadiranje bolesti. To je neophodno ne samo radi izbora najoptimalnijeg tretmana za svakog bolesnika, već i poređenja terapijskih rezultata

i definisanja povoljnih i nepovoljnih prognostičkih kategorija kao i međunarodne razmene iskustava. Određivanje stadijuma bolesti temelji se na kliničkim, radiološkim, hirurškim i endoskopskim metodama pregleda, a procenjuju se stepen invazije zida jednjaka i okolnih organa, prisustvo ili odsustvo uvećanih limfnih žlezda i metastaza. Ovaj TNM (T-tumor, N-nodes, M-metastases) sistem je u standardnoj upotrebi širom sveta (Tabela 2 i 3) (24-26).

Tabela 2: TNM klasifikacija karcinoma jednjaka (24)

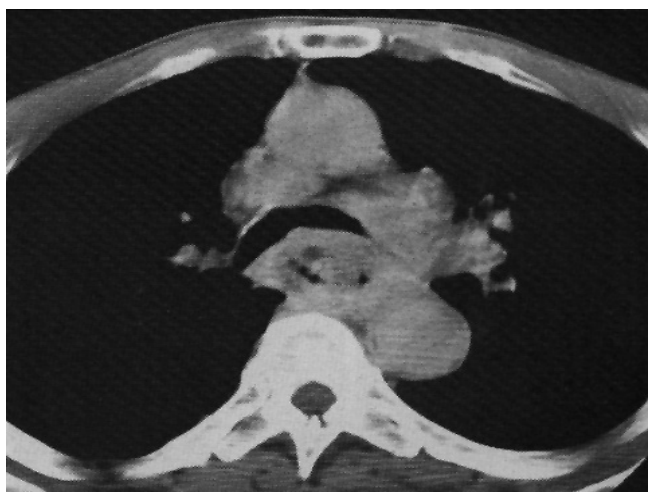
T	primarni tumor		
Tx	primarni tumor ne može biti procenjen		
T0	nema dokaza o postojanju primarnog tumora		
Tis	tumor in situ		
T1	tumor prodire u laminu propriu, muskularni sloj ili submukozu		
	T1a	tumor prodire u laminu propriu ili muskularni sloj sluznice	
	T1b	tumor prodire u submukozu	
T2	tumor prodire u muskularni sloj zida		
T3	tumor prodire u adventiciju		
T4	tumor zahvata okolne strukture		
	T4a	tumor zahvata pleuru, perikard ili dijafragmu	
	T4b	tumor zahvata druge okolne strukture kao što su aorta, pršljensko telo ili dušnik	
N	regionalne limfne žlezde		
Nx	regionalne limfne žlezde se ne mogu proceniti		
N0	regionalne limfne žlezde su bez metastaza		
N1	metastaze u 1-2 limfne žlezde		
N2	metastaze u 3-6 limfnih žlezda		
N3	metastaze u 7 ili više limfnih žlezda		
M	udaljene metastaze		
M0	nema udaljenih metastaza		
M1	postoje udaljene metastaze		
	Tumor donje trećine jednjaka:	M1a	celijačne limfne žlezde
		M1b	udaljene metastaze
	Tumor srednje trećine jednjaka:	M1b	udaljene metastaze uključujući i nepripadajuće limfne žlezde
	Tumor gornje trećine jednjaka:	M1a	cervikalne limfne žlezde
		M1b	udaljene metastaze

Tabela 3: Grupisanje karcinoma jednjaka po stadijumima (24)

Stadijum 0	Tis	N0	M0
Stadijum IA	T1	N0	M0
Stadijum IB	T2	N0	M0
Stadijum IIA	T3	N0	M0
Stadijum IIB	T1, T2	N1	M0
Stadijum IIIA	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T1, T2	N2	M0
Stadijum IIIB	T3	N2	M0
Stadijum IIIC	T4a	N1, N2	M0
	T4b	bilo koji N	M0
	bilo koji T	N3	M0
Stadijum IV	bilo koji T	bilo koji N	M1

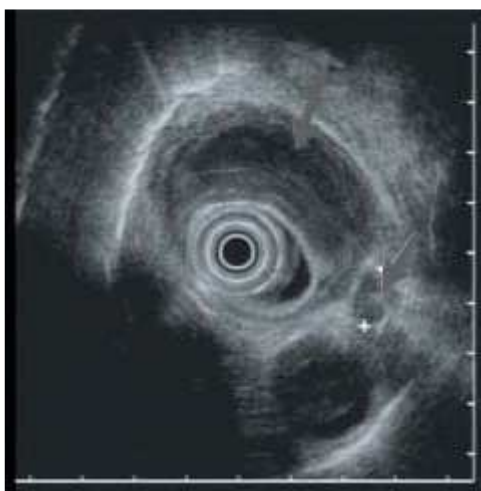
1.2.1. T stadijum

U dijagnostičkom algoritmu preciznog određivanja T stadijuma bolesti kompjuterizovana tomografija (CT) i endoskopski ultrazvuk (EUS) danas predstavljaju standard. Najčešće se primenjuje multislajсни spiralni CT pregled grudnog koša i abdomena sa kontrastom u supinacionom položaju i presecima na 5 mm (slika 4) (26).



Slika 4. Kompjuterizovana tomografija karcinom jednjaka (26)

Iako je u širokoj upotrebi, CT ne može da prikaže sve slojeve zida jednjaka tako da je praktično nemoguće razlikovati T1 i T2 tumor. Takođe, CT ne može da diferentuje mikroskopsku T3 invaziju kao ni makroskopski T3 tumor od perifokalnog edema i regionalne limfadenopatije, posebno u kahektičnih bolesnika. Osnovna karakteristika EUS je baš identifikacija svih komponenata zida te se EUS smatra superiornijim od CT-a u proceni lokalne proširenosti tumora (slika 5) (7).



Slika 5. Endoskopski ultrazvuk karcinom jednjaka i uvećani limfni nodus (strelice) (7)

Senzitivnost EUS u proceni tumorske invazije zida iznosi 85% u poređenju sa patološkim nalazom (27). Invazija okolnih struktura kao što su aorta, traheobronhijalno stablo ili kruksevi dijafragme može se uočiti CT pregledom, mada je senzitivnost niža od endoskopskog ultrazvuka. Medijastinalna invazija može se verifikovati CT pregledom u 80% slučajeva. Do sada nema dokaza da je magnetna rezonanca (MRI) superiornija metoda u određivanju T stadijuma u odnosu na CT (27-35).

1.2.2 N stadijum

U proceni zahvaćenosti limfnih žlezda vodimo se, uglavnom, samo njihovom veličinom. Međutim, sama veličina nije idealan prediktor zahvaćenosti limfatika, posebno u grudnom košu gde i velike limfne žlezde mogu biti reaktivne.

Endoskopskim ultrazvukom moguće je identifikovati pojedine karakteristike limfnih žlezda koje sa velikom verovatnoćom ukazuju na infiltraciju (veličina preko 1 cm, kružan oblik, hipoehogenost). U detekciji regionalnih limfnih žlezda, senzitivnost EUS iznosi 75%, a ukoliko se kombinuje sa biopsijom tankom iglom i preko 90%. Preciznost CT-a u dijagnostici medijastinalnih limfnih žlezda iznosi od 38% do 70%. Ako se limfne žlezde veličine 8 mm smatraju uvećanim, senzitivnost ove metode je 48%, a specifičnost 93%. CT pregledom je moguća i identifikacija udaljenih limfnih žlezda, nedostupnih EUS, a koja vodi u potencijalno isključivanje hirurgije kao terapijskog modaliteta (27, 30, 32, 34, 36, 37).

1.2.3. M stadijum

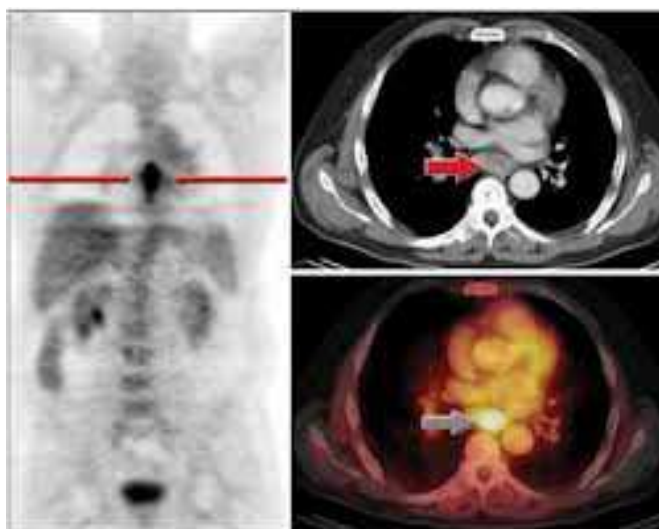
Velika Quint-ova studija na 838 slučajeva novodijagnostikovanih karcinoma jednjaka pokazala je da skoro 20% bolesnika ima metastatsku bolest u momentu postavljanja dijagnoze. Najčešće mesto javljanja metastaza bile su abdominalne i cervikalne limfne žlezde, jetra, pluća, kosti, nadbubrežne žlezde, peritoneum i mozak (38).

Spiralni CT je u značajnoj meri unapredio dijagnostiku metastaza u jetri, te se smatra da je ovom metodom moguće dijagnostikovati 78-80% ovih promena. Standardni transabdominalni ultrazvučni pregled jetre može biti sasvim dovoljan, posebno u slučajevima kada je klinički metastatska bolest u jetri evidentna, ali i u kombinaciji sa magnetnom rezonancom kada je potrebno rasvetliti prirodu suspektnih lezija u jetri verifikovanih CT-om.

Radiografija grudnog koša nije neophodna u dijagnostičkom algoritmu obzirom da se rutinski radi CT pregled grudnog koša. Takođe, bronhoskopija se ne primenjuje rutinski u proceni traheobronhijalne invazije obzirom da se ona sa visokom preciznošću utvrđuje CT-om i endoskopskom ultrasonografijom. Bronhoskopija je indikovana samo kada je manje invazivnom metodom infiltracija vazdušnih puteva suspektna ali nije sigurno potvrđena.

Standardnim dijagnostičkim metodama je veoma teško proceniti peritonealnu diseminaciju bolesti i kod selektovanih slučajeva indicovana je laparoskopija (5,29).

Morfološke dijagnostičke metode kao što su endoskopija, EUS, CT, MRI, ne mogu zasigurno da razlikuju vijabilni tumor od okolne reakcije, edema ili ožiljka. Uvođenje pozitron emisije tomografije (PET) sa F18 fluorodeoksiglukozom (FDG) u kliničku praksu omogućilo je otkrivanje primarnog tumora, metastatskih limfnih žlezda i udaljenih metastaza koje nisu bile dostupne CT pregledu ili EUS (slika 6). Smatra se da se FDG-PET pregledom u 15% slučajeva detektuje metastatska bolest kod bolesnika za koje se smatralo da imaju lokalizovan karcinom jednjaka (39, 40).



Slika 6. Pozitron emisiona tomografija-PET

http://www.petscaninfo.com/zportal/portals/phys/clinical/petct_case_studies/esophageal/esophageal_case1

Bolesnici kod kojih je karcinom ograničen samo na zid jednjaka i nema metastaza u regionalnim limfnim žlezdama (T1-2, N0) čine mali procenat dijagnostikovanih slučajeva. Na osnovu TNM klasifikacije, više od 50% bolesnika ima neresektabilni ili metastatski karcinom jednjaka u momentu postavljanja dijagnoze. Uprkos brojnim terapijskim pristupima, petogodišnje preživljavanje

bolesnika sa lokalno uznapredovalom bolešću je slabo (10-15%), a u metastatskom stadijumu čak i ispod 1% (tabela 4) (7, 41).

Tabela 4. Petogodišnje preživljavanje bolesnika sa karcinomom jednjaka u zavisnosti od TNM stadijuma (7)

Stadijum	Tumor (T)	Limfne žlezde (N)	Metastaze (M)	5-godišnje preživljavanje (%)
0	Tis	N0	M0	>95
I	T1	N0	M0	50-80
IIA	T2-3	N0	M0	30-40
IIB	T1-2	N1	M0	10-30
III	T3	N1	M0	10-15
	T4	Bilo koji N	M0	
IVA	Bilo koji T	Bilo koji N	M1a	<5
IVB	Bilo koji T	Bilo koji N	M1b	<1

1.3. TERAPIJSKI MODALITETI U LEČENJU LOKALNO UZNAPREDOVALOG KARCINOMA JEDNJAKA

Nakon detaljnog kliničkog stadiranja, lokalizovani karcinom jednjaka (Tis, I i II A) se u visokom procentu (80%) leči radikalnom hirurškom resekcijom. Na osnovu dosadašnjih istraživanja, nema jasnih indikacija za postoperativnu zračnu ili hemioterapiju u ranom stadijumu bolesti. Bolesnici koji nisu kandidati za radikalni hirurški pristup (starija životna dob, značajan komorbiditet) mogu se tretirati endoskopskom mukozektomijom, elektrokauterizacijom, argon plazmom ili laserom, kao i izolovanom ili kombinovanom primenom radio i hemioterapije.

Kada karcinom jednjaka probija njegov zid, infiltriše okolne organe ili postoje metastaze u regionalnim limfnim žlezdama (stadijum II B i III), bolest se smatra lokalno uznapreovalom. Donošenje odluke o najboljoj terapijskoj opciji tada je veoma teško i usmereno na svaki pojedinačni slučaj. Hirurgija, radioterapija i hemioterapija, najčešće u kombinaciji, za sada su u širokoj kliničkoj primeni, mada su rezultati skromni. U sasvim uznapreovalom (III C) i metastatskom stadijumu bolesti (stadijum IV), navedenim terapijskim modalitetima postiže se, nažalost, samo palijativni efekat (4, 5, 42-47).

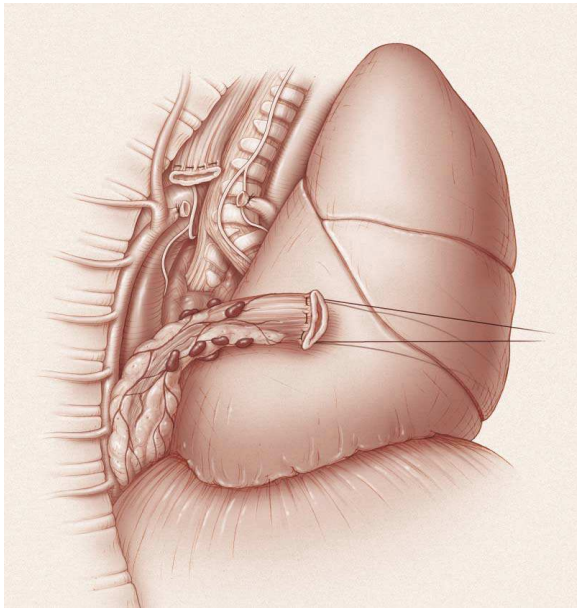
1.3.1. HIRURGIJA

Ezofagektomija kao monoterapija je kurativna metoda u sasvim malom broju slučajeva lokalno uznapreovalog karcinoma jednjaka. Petogodišnje preživljavanje radikalno operisanih bolesnika u stadijumu II B iznosi 10% do 30%, a u stadijumu III 10%-15% (48, 49). Kod ovih bolesnika lokalni i metastatski relaps se javljaju u preko 50% slučajeva sa medijanom vremena do pojave relapsa od 12 meseci. Od momenta pojave relapsa ukupno preživljavanje iznosi oko 7 meseci. U studiji Mariette i sar. lokalni relaps je zabeležen u 12% slučajeva, regionalni u 20% (vrat 3,6%, medijastinum 14,8%, abdomen 2,1%) a udaljeni u 19,8% slučajeva (50). Kao najznačajniji prognostički faktori za pojavu relapsa bolesti izdvojili su se dubina tumorske invazije, status resekcionih margina i broj pozitivnih limfnih žlezda (50-53).

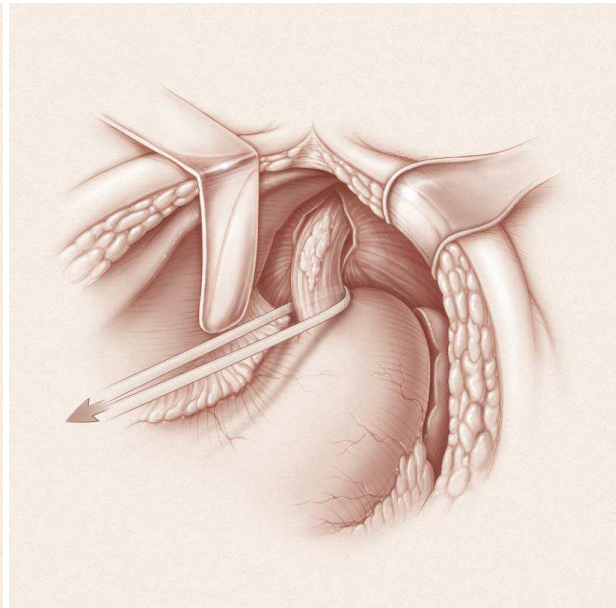
Pre donošenja odluke o hirurškom tretmanu karcinoma jednjaka neophodna je detaljna procena same bolesti, ali i opšteg stanja bolesnika. Od suštinske je važnosti tačan histološki tip tumora, njegova veličina, lokalizacija, zahvaćenost okolnih struktura i limfnih žlezda i prisustvo ili odsustvo metastaza. S druge strane, bolesnici sa uznapredovalim karcinomom jednjaka su često starije životne dobi, narušenog opšteg stanja i sa brojnim komorbiditetima (diabetes mellitus, kardiovaskularna, pulmonalna, renalna ili hepatična insuficijencija). S toga je individualni pristup obavezan uz detaljno razmatranje rizika i benefita.

Mada je najbolji pristup u ezofagektomiji i dalje kontroverzan, u kliničkoj praksi najčešće se koriste transtorakalna i transhijatalna ezofagektomija. Prilikom transtorakalne ezofagektomije sama lokalizacija tumora, odnosno njegovog proksimalnog pola, diktira hirurški pristup. Generalno, karcinomi jednjaka lokalizovani u njegovoj srednjoj trećini manje su podesni za radikalni hirurški zahvat od onih lokalizovanih u donjoj trećini zbog bliskog kontakta sa srcem, aortom, levim bronhom, trahejom i pulmonalnim krvnim sudovima. Ukoliko se proksimalni pol tumora nalazi ispod nivoa karine, pristupa se levostranoj torakotomiji. Ova incizija omogućava odličan pregled toraksa i pristup levom gornjem abdomenu perifernom incizijom leve hemidijafragme. Međutim, blizina luka aorte često može da kompromituje proksimalnu resekciju. S toga, ukoliko se tumor nalazi iznad nivoa karine, jednjaku se pristupa desnostranom torakotomijom čime se omogućava preciznija disekcija tumora i limfadenektomija gornjeg posteriornog medijastinuma. Desnostrani transtorakalni pristup kombinuje ujedno i laparotomiju, obzirom da se želudac ili kolon sa kojima će se ostatak jednjaka anastomozirati, ne mogu mobilisati kroz desni hemitoraks (slika 7) (54). Po resekciji jednjaka formira se najčešće anastomoza sa želudačnom cevi u gornjoj trećini grudnog koša (Iwor-Lewis tehnika) ili u vratu kod visoko lokalizovanih tumora (tehnika tri polja). Ukoliko želudac nije pogodan za anastomoziranje, interponira se kolon kao ezofagealna zamena, i to najčešće lijenalna fleksura, deo desendentnog ili transverzalnog kolona.

S druge strane, transhijatalni pristup podrazumeva laparotomiju i kroz hijatus disekciju torakalnog jednjaka na slepo sa mobilizacijom želuca i formiranjem ezofago-gastrične anastomoze. Najčešće se koristi kod tumora lokalizovanih u distalnoj trećini jednjaka (slika 8) (54).



Slika 7. Transtorakalna ezofagektomija (54)



Slika 8. Transhijatalna ezofagektomija (54)

Transtorakalna ezofagektomija omogućava dobru vizualizaciju tumora u grudnom košu, široku medijastinalnu limfadenektomiju i adekvatnu hemostazu, što transhijatalnim pristupom nije sigurno. Međutim, ovaj pristup je povezan sa povećanim rizikom od kardiopulmonalnih komplikacija, a kod Ivor-Lewis tehnike i rizikom od curenja anastomoze u grudni koš. Iako ni jedan retrospektivni ni prospektivni trajal nije pokazao statistički značajnu razliku u preživljavanju ili postoperativnom mortalitetu između ova dva pristupa, transhijatalnim pristupom se izbegava torakotomija čime se redukuje pojava pulmonalnih komplikacija i hilotoraksa (54-61).

Cilj radikalne operacije karcinoma jednjaka je uklanjanje tumora u celosti čime se minimizira rizik od lokalnog relapsa, ali i adekvatna limfadenektomija koja omogućava precizno stadiranje bolesti. Postizanje kompletne R0 resekcije (odsustvo makroskopske i mikroskopske rezidualne bolesti) kao i broj pozitivnih

limfnih žlezda je značajan prognostički faktor, posebno kod skvamocelularnog karcinoma. Obzirom da je submukozno širenje karakteristika svih histoloških tipova karcinoma jednjaka, javlja se visok procenat pozitivnih resekcionih margina. Ekstenzivne studije ukazuju na to da proksimalna resekciona ivica treba da bude 10 cm iznad makroskopskog tumora i 5 cm ispod kod karcinoma torakalnog jednjaka. Ukoliko je karcinom jednjaka lokalizovan u abdomenu, on često infiltriše kardiju, fundus i malu krivinu. Iako je neophodna resekcija barem 5 cm distalno od makroskopskog tumora, pozitivne ivice se često javljaju, posebno u uznapredovalom stadijumu bolesti (62-64). U pokušaju izmene nepovoljnog prirodnog toka bolesti, nekoliko hirurških grupa okrenulo se radikalnim pristupima uvodeći 1986. godine en blok ezofagektomiju u stadijumu I i II karcinoma jednjaka, a od 1992. godine i u stadijumu III. Sama procedura kod tumora donje i srednje trećine jednjaka podrazumeva, pored ekscizije samog tumora, resekciju i okolnih struktura, odnosno obe medijastinalne pleure, perikarda, vene azigos i ductus-a thoracicus-a. Kod tumora koji prolaze hijatus, resekcira se i 1 cm dijafragme cirkumferentno. Tumori gornje trećine jednjaka se resekuju u okviru uskih margina gornjeg medijastinuma.

Resekcije se smatraju kurativnim ukoliko nema prisustva makroskopske rezidualne bolesti ni pozitivnih resekcionih ivica (R0). S druge strane, resekcije se smatraju palijativnim ukoliko je zaostala mikroskopska (R1) ili makroskopska rezidua (R2) na ivicama resekcije, u grudnom košu ili abdomenu.

Skoro 80% bolesnika sa karcinomom jednjaka ima prisutne metastaze u limfnim žlezdama, a njihova distribucija nije tesno povezana sa lokalizacijom samog tumora. Ekstenzivnost limfadenektomije koja bi sama po sebi dovela do smanjenog rizika od lokalnog relapsa, za sada nije ustanovljena. Standardna disekcija limfnih žlezda tehnikom „dva polja“ uključuje paraaortalne limfne žlezde duž ductus-a thoracicus-a, paraezofagealne, leve i desne hilarne i limfne žlezde bifurkacije traheje. U pojedinim slučajevima, disekcija pristupom „tri polja“ uključuje i limfne žlezde vrata, to jest, brahiocefalične i duboke anteriorne cervikalne limfne žlezde duž nervus laringeus recurrence-a. Abdominalna

limfonodektomija obuhvata leve i desne kardijalne limfne žlezde, one duž male krivine želuca, leve gastrične, retroperitonealne, hepatične i splenične limfne žlezde. Bez obzira na lokalizaciju tumora, uvek se primenjuje limfadenektomija gornjeg abdomena zbog tendencije skip metastaza (65-68). Iako se ekstenzivna limfadenektomija iz tri polja (abdomen, grudni koš i vrat) sa velikim entuzijazmom primenjuje u Japanu u slučaju skvamocelularnog karcinoma, u zapadnim zemljama nije široko prihvaćena obzirom da je povezana sa povećanim pulmonalnim morbiditetom i povredama rekurentnog nerva (69-72).

Postoperativne komplikacije pogađaju 26% do 41% operisanih bolesnika pri čemu se kao najčešće javljaju pulmonalne (pneumonija, atelektaza, edem pluća, plućna embolija) i kardiovaskularne komplikacije (infarkt miokarda, aritmija, perikarditis), zatim curenje anastomoze (5%), povreda nervus recurrens-a, hiltoraks (2-3%), infekcija, krvarenje, tromboza dubokih vena. Veća učestalost komplikacija uočena je kod radikalnijih kurativnih procedura (30%) u odnosu na palijativne i manje ekstenzivne kurativne metode.

Nekoliko multiinstitucionalnih randomizovanih trajala dokumentovalo je procenat operativnog mortaliteta od 4% do 10%. Kao najčešći uzrok smrti u postoperativnom periodu navodi se plućna embolija, srčana insuficijencija, edem pluća, pneumonija, curenje anastomoze i sepsa. Nije uočena statistički značajna razlika u mortalitetu i morbiditetu između mlađih bolesnika i onih starijih od 70 godina (2% i 12% respektivno) (73-77).

1.3.2. RADIOTERAPIJA

Svega 25% bolesnika sa karcinomom jednjaka ima lokalizovanu bolest (T1/2, N0/1,M0) koja je inicijalno pogodna za hirurški tretman. Još manji procenat bolesnika je dovoljno očuvanog opšteg stanja za tako invazivan pristup. S toga se radioterapija predominantno primenjuje kod bolesnika koji nisu inicijalno kandidati za hirurško lečenje.

Na osnovu stadijuma bolesti, godina starosti pacijenta, njegovog opšteg stanja, očekivanog vremena preživljavanja kao i verovatnoće pojave relapsa,

radioterapija se danas može primeniti kao radikalna, palijativna ili se kombinovati sa drugim modalitetima lečenja (hirurgijom, hemioterapijom ili oba). Primenom radioterapije kao monoterapije kod većine bolesnika postiže se izvestan odgovor, ali je on kratkotrajan i iznosi u proseku 3-9 meseci. Dvogodišnje preživljavanje radikalno zračenih bolesnika je obično ispod 20%, a petogodišnje ispod 5%. Pojedini autori navode petogodišnje preživljavanje ovih bolesnika oko 10%, međutim, tu se najčešće radi o bolesnicima sa ranim karcinomom jednjaka (78, 79). Preoperativna i postoperativna primena zračne terapije nisu dale očekivane rezultate u smislu poboljšanja preživljavanja uz nešto bolju lokalnu kontrolu bolesti (80). Preoperativna radioterapija nalazi svoje teoretske racionalne u smanjenju veličine tumora, povećanja stope resektabilnosti i sterilizacije mikrometastaza u regionalnim limfnim žlezdama. U tom cilju ispitivani su različiti dozni režimi i režimi frakcioniranja od akcelerisanih (20Gy u 5 frakcija do 30-45Gy u 8-12 frakcija) pa do konvencionalnih režima srednjim (40-45Gy) i visokim dozama (50-60Gy). Nažalost, benefit u preživljavanju nije postignut. Dvogodišnje preživljavanje iznosi oko 20-30%, a petogodišnje 10-25%. Postoperativna zračna terapija ima svoje racionalne kod bolesnika sa uskim ili pozitivnim resekcionim marginama, ali bez uticaja na preživljavanje. Šta više, anastomoza (sa interponiranim želucem ili kolonom) ne toleriše kurativne doze zračenja (preko 50Gy). Kao izuzetak, navodi se studija Kasai i saradnika koja je pokazala dramatično bolje ukupno petogodišnje preživljavanje postoperativno zračenih, N0 bolesnika (35%) (78). Ukoliko se radioterapija sprovodi kao palijativna metoda, usled obstruktivnog sindroma, dovodi do poboljšanja disfagije u oko 80% slučajeva, ali bez uticaja na preživljavanje.

Bez obzira u kom cilju se primenjuje, zračna terapija karcinoma jednjaka može da se sprovede kao transkutana, endoluminalna (brahiterapija) ili kombinacija ova dva pristupa. Poslednjih godina postignut je značajan tehnički i tehnološki napredak u samom izvođenju radioterapije, ali su optimalna doza i idealno vreme otpočinjanja zračenja još uvek predmet diskusija.

1.3.2.1. TRANSKUTANA RADIOTERAPIJA

Prilikom određivanja zračnog volumena i aranžmana zračnih polja od velike su važnosti lokalizacija i karakteristike samog tumora, ali i zaštita okolnih zdravih struktura (kičmene moždine, pluća, srca).

Konvencionalnom tehnikom radioterapije, određivanje zračnog volumena vrši se na specijalno dizajniranom rendgenskom aparatu Simulatoru, a na osnovu referentnih skenerskih preseka i markiranja jednjaka barijumskim kontrastom. Bolesnik se postavlja na sto Simulatora u pronacioni položaj koji obezbeđuje odvajanje jednjaka od kičmene moždine. Kod karcinoma cervikalnog jednjaka ili gornje torakalne trećine, glava se postavlja u poseban podmetač licem na dole radi ispravljanja fiziološke zakrivljenosti kičme, dok se ruke pozicioniraju pored tela. Kod niskih lokalizacija, bolesnik takođe leži u pronacionom položaju, pri čemu glava može biti pozicionirana i u stranu. Ruke se tada pozicioniraju iznad ili ispod glave kako se ne bi našle na putu zračnih snopova (slika 9). Ukoliko bolesnik ne može da zauzme pronacioni položaj, postavlja se u supinaciju, a ukoliko postoji kifoza ili deformitet kičme pozicioniranje se individualno koriguje do optimalnog.

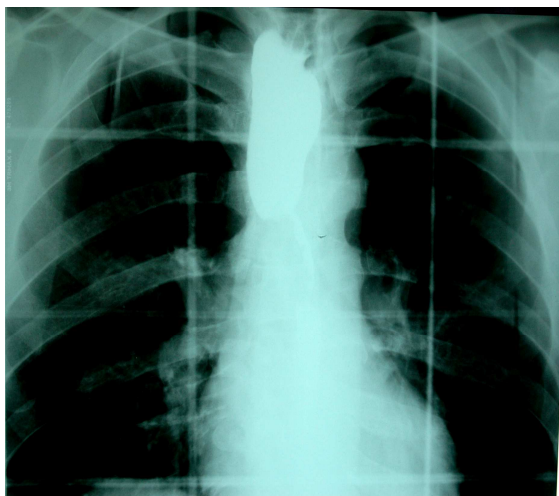


Slika 9. Pozicioniranje pacijenta na Simulatoru

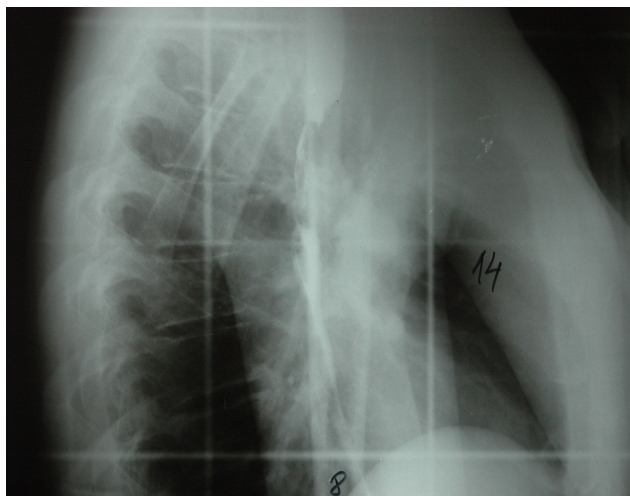
Određivanje veličine zračnog polja vrši se tako što se bolesniku da da popije barijumski kontrast i u momentu dok pije načini radiografija na Simulatoru. Pored barijumske ezofagografije, za određivanje lokalizacije tumora koristi se i nalaz

ezofagoskopije i CT-a grudnog koša. Posteroanteriorno (PA), odnosno anteroposteriorno (AP) zračno polje se određuje na sledeći način: gornja i donja granica zračnog polja su po 5 cm udaljenje od gornje i donje ivice tumora radi pokrivanja potencijalnog submukoznog širenja. U drugoj fazi radioterapijskog tretmana ove margine mogu biti smanjene na 2 cm. Lateralna margina se određuje na osnovu CT-a i ezofagograma i obično se postavlja 1,5-2,5 cm od zida jednjaka čime se obezbeđuje pokrivenost celog zida jednjaka i regionalnih limfnih žlezda. U pojedinim centrima u zračno polje se uključuju i supraklavikularne i celijačne limfne žlezde. Ako se zračna terapija planira kao palijativna, margine mogu biti i uže u cilju redukcije toksičnosti (slika 10).

Bočna polja se određuju na isti način, na profilnom snimku, uz izbegavanje kičmene moždine (slika 11). Određena zračna polja tetoviraju se na koži bolesnika kako bi se obezbedila njihova reproducibilnost na aparatu za zračenje.



Slika 10. PA/AP polje-simulaciona radiografija



Slika 11. Bočno polje-simulaciona radiografija

Cilj svake zračne terapije je aplikovanje određene doze na volumen od interesa uz poštovanje tolerantne doze okolnih zdravih struktura. U slučaju karcinoma jednjaka to su kičmena moždina, pluća i srce. U tom cilju, zračna terapija može da se sprovede iz dva, tri ili četiri polja. Tehnika iz dva polja (dva paralelna suprotna PA/AP ili AP/PA) najčešće se primenjuje kao palijativna u cilju

ublaženja tegoba (disfagija, odinofagija) kod bolesnika koji nisu kandidati za radikalne pristupe. Ova jednostavna tehnika u potpunosti odgovara zahtevima što jednostavnije manipulacije teških bolesnika uz optimalno ozračivanje željenog volumena. Palijativne doze zračenja su značajno manje od radikalnih i ranga su 30Gy (81-83).

Kada se, pak, radi o radikalnom pristupu, zračna terapija može da se primeni iz tri polja (direktno zadnje ili prednje i dva bočna ili dva ukošena) ili iz četiri polja. Tehnika zračenja iz četiri polja (dva paralelna suprotna AP/PA i dva bočna) izvodi se tako što se aplikuje doza od 40-45 Gy iz dva paralelna suprotna polja (PA/AP ili AP/PA) u 20-25 frakcija tokom 4-5 nedelja, a potom se nastavlja sa još 15-25 Gy u 8-13 frakcija korigovanim bočnim poljima, tako da ukupna radikalna doza iznosi 60-65 Gy. Kada se primenjuje kombinovano sa hemioterapijom ili hirurģijom doze zračenja su redukovane i obično ne prelaze 50Gy.

Transkutano zračenje se izvodi na megavoltažnim električnim aparatima (linearni akcelerator) visokoenergetskim X zracima (fotoni energija preko 10 MeV) Na linearnom akceleratoru pacijent se dovodi u željeni položaj zadat na Simulatoru na osnovu referentnih tačaka tetoviranih na koži pacijenta. Tretman je svakodnevan tokom 5-6 nedelja i u većini institucija primenjuje se klasično frakcioniranje doze zračenja od 1,8 do 2 Gy dnevno, pet frakcija nedeljno.

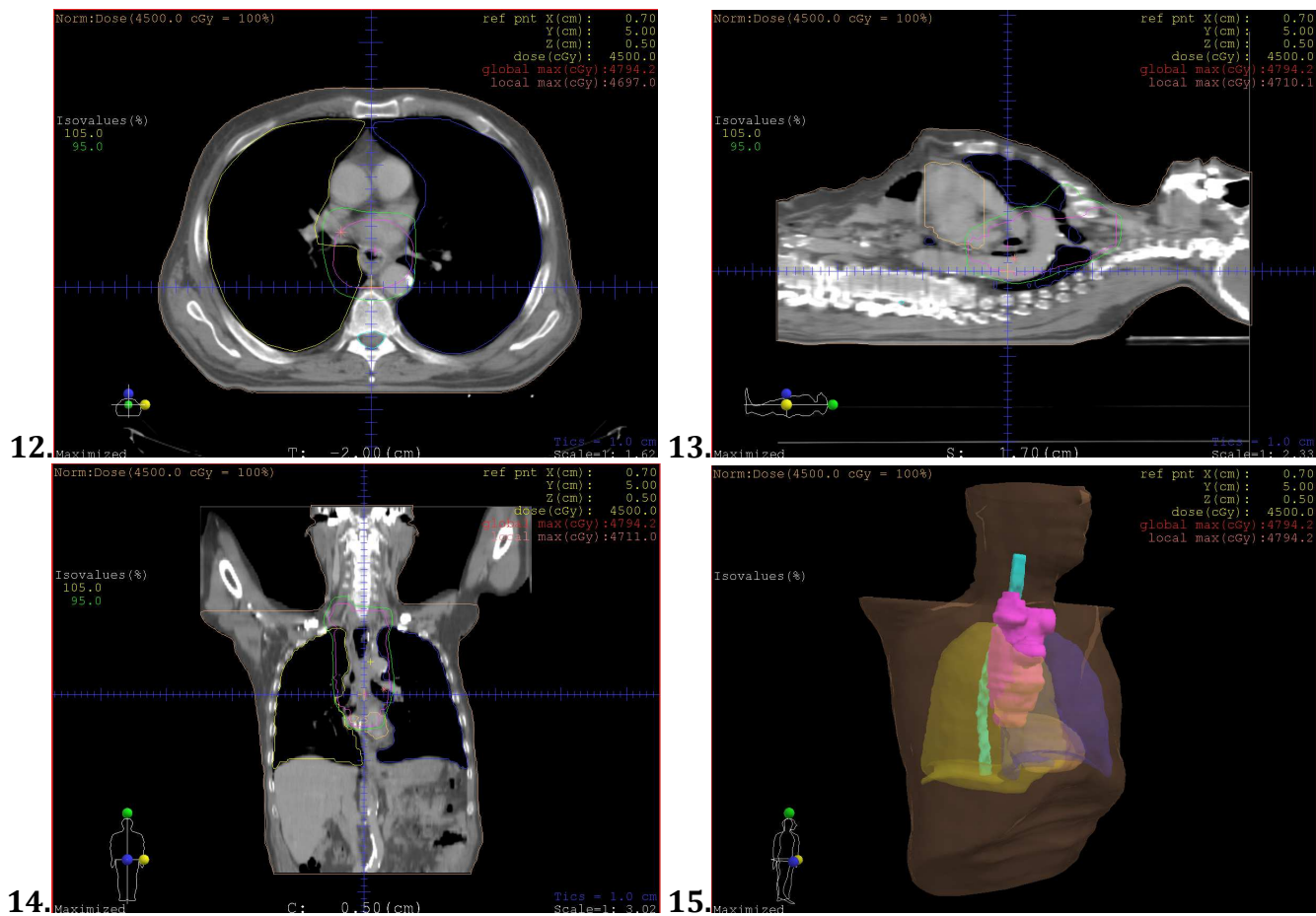
U poslednjih deset godina učinjen je značajan napredak u razvoju radioterapijskih tehnika. *Trodimenzionalna konformalna radioterapija* (Engl. *3D Conformal Radiotherapy-3DCRT*) danas praktično postaje standard. Zahvaljujući razvoju modernih imaging metoda, novih generacija akceleratora i 3D sistema za planiranje, konformalna radioterapija omogućava individualno prilagođavanje zračnog polja obliku mete, a samim tim i aplikovanje visokih doza na ciljni volumen uz bolju poštedu okolnih zdravih struktura. Na taj način poboljšava se lokalna kontrola bolesti, a u isto vreme nivo akutnih i hroničnih komplikacija svodi se na prihvatljivu meru.

Sam proces 3DCRT je kompleksan i sastoji se od nekoliko koraka: imobilizacija, određivanje referentnih tačaka, CT simulacija, planiranje ciljnih volumena, planiranje zračnih snopova, evaluacija plana, verifikacija plana, sam tretman i verifikacija u toku zračnog tretmana.

Kao i kod konvencionalne tehnike, pozicioniranje i imobilizacija pacijenta obezbeđuju preciznost i reproducibilnost položaja bolesnika, a u cilju adekvatnog ozračivanja mete. Izvode se na Simulatoru na isti način kao kod konvencionalne tehnike, s tom razlikom što se sada markiraju referentne tačke na koži bolesnika koje određuju njegovu geometriju. Obeležavaju se tri referentna markera u nivou horizontalne ravni: 1-projekcija bočnog lasera na desnoj strani, 2-projekcija bočnog lasera na levoj strani, 3-mesto ukrštanja x i y ravni u nivou sagitalnog lasera.

3D sistem za planiranje zasniva se na CT Simulatoru kojim se pravi serija skenerskih preseka regiona od interesa (grudni koš i gornji abdomen) pri čemu je bolesnik pozicioniran kako je na Simulatoru zadato. Na dobijenim presecima radiolog kompjuterskim putem obeležava volumen tumora sa okolnim marginama shodno protokolu međunarodne Komisije za radiološke jedinice (Engl. *International Commission on Radiological Units -ICRU*) 50/62. Takođe, posebno se konturišu organi izloženi riziku od zračenja (Engl. *Organs at risk-OAR*), što su u ovom slučaju srce, pluća i kičmena moždina. Prema ICRU 50/62 u 3D planiranju određuje se nekoliko volumena:

1. GTV (*Gross Tumor Volume*): dijagnostičkim procedurama uočljiva makroskopska dimenzija tumora
2. CTV (*Clinical Target Volume*): GTV + mikroskopsko širenje tumora
3. PTV (*Planing Target Volume*): CTV + sigurnosna margina koja obuhvata potencijalnu grešku prilikom pozicioniranja pacijenta i fizioloških pokreta organa
4. TTV (*Treated Target Volume*): volumen koji pokriva jedna izodozna površina
5. ITV (*Irradiated Volume*): volumen tkiva koji prima dozu signifikantnu u odnosu na toleranciju normalnog tkiva (84,85) (Slika 12, 13, 14, 15)

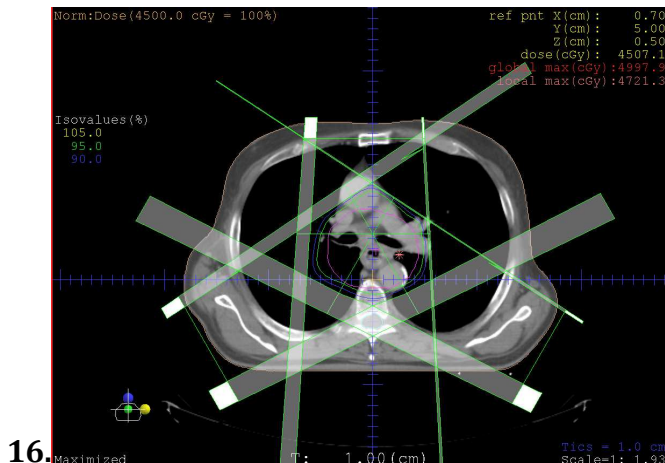


Slika 12. 13. 14. Konture zračnog volumena (GTV, CTV i PTV) i organi od rizika u transverzalnoj, sagitalnoj i koronarnoj ravni.

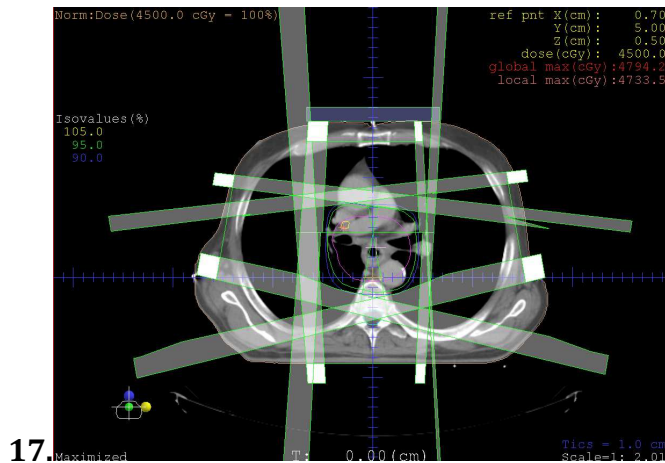
Slika 15. 3D rekonstrukcija (žuto-desno plućno krilo, plavo-levo plućno krilo, cijan-kičmena moždina, narandžasto-srce, ljubičasto-PTV)

Optimalni aranžman polja se određuje individualno za svakog bolesnika u cilju homogenog ozračivanja željenog volumena (PTV) uz maksimalnu poštedu okolnih zdravih organa (slika 16 i 17).

Zahvaljujući *multileaf* kolimatoru novih generacija linearnih akceleratora, oblik i veličina polja automatski se prilagođavaju individualnom obliku mete.



16.

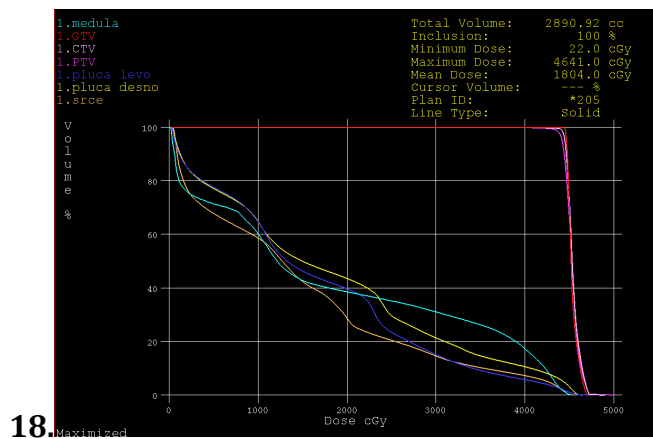


17.

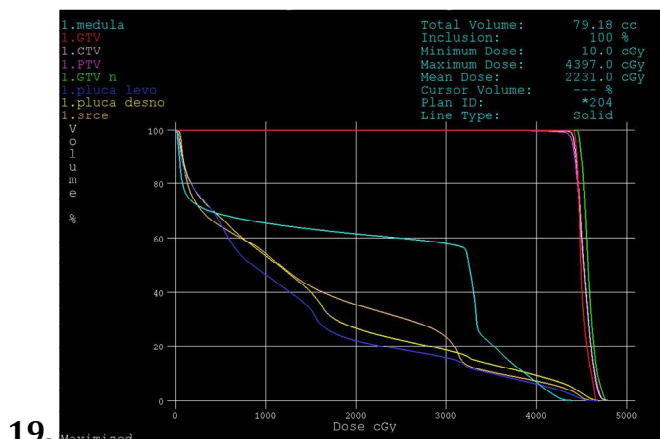
Slika 16. Aranžman tri polja (direktno prednje i dva bočna, ukošena)

Slika 17. Aranžman četiri polja (prednje, zadnje i dva bočna ukošena)

Analiziranjem doznih histograma (Engl. *Dose Volume Histogram-DVH*) za sve konturisane strukture vrši se evaluacija plana, odnosno procenjuje 95% doza aplikovana na PTV i doza koju primaju OAR (slika 18 i 19).



18.

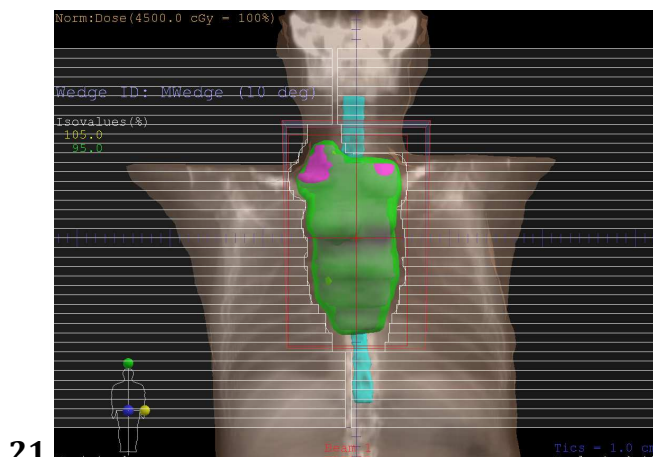
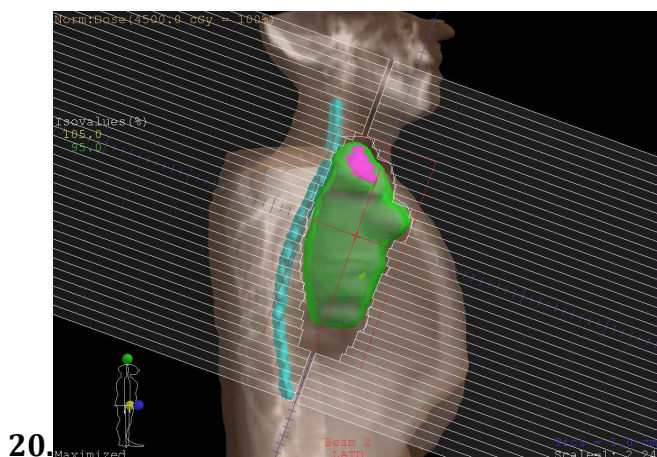


19.

Slika 18. Dose volume histogram (DVH) za plan iz tri polja

Slika 19. Dose volume histogram (DVH) za plan iz četiri polja

Ukoliko je plan zadovoljavajući pristupa se verifikaciji plana na Simulatoru pri čemu se porede zadata polja (digitalno rekonstruisana radiografija-DRR) (slika 20 i 21) i projekcije polja na pacijentu u momentu snimanja.



Slika 20. Digitalno rekonstruisana radiografija (DRR)-bočno polje

**Slika 21. Digitalno rekonstruisana radiografija (DRR)-prednje polje
Lifovi multileaf kolimatora prilagođeni nepravilnom obliku mete**

Verifikacija polja se može raditi i nekoliko puta u toku samog kursa radioterapije u cilju osiguranja idealnog ozračivanja obzirom da pacijenti često gube na težini i da se njihova geometrija menja.

Značajan napredak u radioterapiji je Intenzitet modulirana radioterapija (Engl. *Intensity Modulated Radiation Therapy - IMRT*). To je unapređena forma 3DCRT pri kojoj se primenjuje neuniformni intenzitet zračnih snopova. Planiranje zračne terapije IMRT tehnikom zasniva se na referentnom CT preseku na kome radiolog kompjuterskim putem ocrta regione od interesa i organe od rizika na sličan način kao kod 3DCRT. Za svaki od označenih regiona posebno se određuje doza zračenja pri čemu se optimizacija distribucije doze vrši ubacivanjem tolerantne doze određenih organa u matematičke algoritme. Korišćenjem kompjuterskih algoritama menja se intenzitet svakog zračnog snopa sa ciljem povećanja razlike u dozi između volumena mete i okolnih zdravih struktura. Na taj

način omogućena je eskalacije doze na ciljni volumen i smanjena doza na OAR. Samim tim poboljšana je lokalna kontrola bolesti i redukovana toksičnost (86).

1.3.2.2. INTRALUMINALNA BRAHITERAPIJA

Brahiterapija, kao oblik radioterapije, predstavlja uvođenje radioaktivnog izvora u region od interesa tako da se izvor zračenja nalazi u neposrednoj blizini tumora. Ova metoda omogućava aplikovanje visokih doza lokalno uz maksimalnu poštedu okolnih zdravih struktura. Kod karcinoma jednjaka primenjuje se kao intraluminalna, izolovano ili u kombinaciji sa laserskom ablacijom ili transkutanom radioterapijom.

Savremena intraluminalna zračna terapija karcinoma jednjaka predstavlja tzv. privremenu brahiterapiju. To znači da se izvori zračenja koji se plasiraju u jednjak posle određenog vremena iz njega uklanjaju. Privremeni radioizotop koji se danas najčešće primenjuje je Iridijum (Ir 192)-emiter γ zraka. Sama procedura se izvodi na posebnom brahiterapijskom uređaju (Selektron, Mikroelektron) afterloading tehnikom.

Nakon dilatacije jednjaka, afterloading kateter se uvodi kroz jednjak sve do želuca. Kad god je moguće, korisno je prethodno plasirati nazogastričnu sondu od 12 ili 14 Gauge koja onda služi kao vodič afterloading kateteru.

Po plasiranju katetera bolesnik se snimi na Simulatoru kako bi se odredila dužina mete koja će se tretirati, kao i udaljenost od kraja katetera do početka ciljnog volumena. Ta udaljenost se uzima kao referentna tačka početka punjenja radioaktivnog izvora iz kontejnera brahiterapijskog aparata.

Kao i kod karcinoma bronha, doza se propisuje na 1 cm lateralno od ose katetera. Za jednostavne palijativne režime aplikuje se doza od 15Gy u jednoj seansi na 1 cm od ose katetera. Ukoliko se, pak, primenjuje kao lokalni boost u kombinaciji sa transkutanom radioterapijom može se primeniti kao single doza od 7,5Gy na početku i kraju transkutanog tretmana (82).

1.3.2.3. KOMPLIKACIJE RADIOTERAPIJE

Komplikacije radioterapije mogu biti akutne i kasne. Akutne komplikacije se javljaju u toku zračnog tretmana ili neposredno posle, a kasne nakon šest meseci ili više godina od zračenja. Nastaju kao posledica dejstva jonizujućeg zračenja na zdrave organe u zračnom volumenu i mogu se gradirati prema intenzitetu i posledicama. Prema radioterapijskoj i onkološkoj (Engl. *Radiation Therapy Oncology Group-RTOG*) skali postoje 4 gradusa komplikacija:

- gradus I: prolazni simptomi koji ne narušavaju kvalitet života bolesnika
- gradus II: perzistentni ili recidivirajući simptomi koji zahtevaju konzervativni tretman
- gradus III: komplikacije onemogućavaju normalno svakodnevno funkcionisanje bolesnika
- gradus IV: najteže komplikacije sa ireverzibilnim funkcionalnim oštećenjima koja mogu biti i letalna (87)

Prilikom zračenja karcinoma jednjaka mogu se javiti akutne komplikacije na okolnim organima kao što su srce, pluća, koža ali i na samom jednjaku. Ipak, samo 2% radikalno zračenih bolesnika razvija toksičnost gradusa 4, dok je terapijski mortalitet sporadičan (88).

Reakcije kože u vidu eritema, hiperpigmentacije, suve i vlažne deskvamacije posledica su dejstva jonizujućeg zračenja na bazalne ćelije epidermisa. Danas se ređe javljaju zahvaljujući megavoltažnim aparatima koji omogućavaju pomeranje maksimalne dubinske doze značajno ispod nivoa kože. Obično su blage do umerene (gradusa I-II) i prolaze primenom simptomatske terapije. Usled oštećenja krvnih sudova i vezivnog tkiva, kao kasna komplikacija zračenja na koži, mogu se javiti atrofija kože, epilacija i teleangiektazije.

Dejstvo jonizujućeg zračenja na bazalne ćelije mukoze jednjaka uzrokuje ezofagitis koji se klinički manifestuje disfagijom, odinofagijom i bolom iza grudne kosti. Obično se javlja u drugoj i trećoj nedelji zračenja (~20-30Gy), i često je udružen sa kandidijazom kao superinfekcijom. U pojedinim slučajevima disfagija i odinofagija mogu biti i gradusa III što kompromituje dalje lečenje i obavezuje na

prilagođavanje ishrane bolesnikovim mogućnostima gutanja u smislu nutritivne gastro ili jejunostome. Slične tegobe se javljaju i prilikom intraluminalne brahiterapije, s tim da se u tom slučaju mogu javiti i ulceracije na sluznici jednjaka. Usled nekroze samog tumora pod dejstvom zračenja mogu nastati fistule između jednjaka i traheje, bronha ili aorte kao i krvarenja. Bolesnici koji odgovore na radioterapiju, kao kasnu komplikaciju mogu razviti stenozu jednjaka koja dalje može zahtevati dilatacije ili plasiranje stenta.

Ozračivanje srca, ili jednog njegovog dela je veoma teško izbeći, posebno kod karcinoma lokalizovanih u distalnoj trećini jednjaka. Toksični efekti na srcu se najčešće ispoljavaju poremećajima ritma, promenama na EKG-u na nivou ST segmenta i inverzije T talasa praćenih malaksalošću, zamaranjem, dispneom i stenokardijama. Primenom savremenih tehnika zračenja moguće je limitirati dozu na 30Gy ili manje za celo srce. Takođe, ukoliko se radioterapija pažljivo planira, manje od polovine srca primiće dozu od 40Gy, pri čemu se posebna pažnja posvećuje zaštiti leve komore. Shodno tome, perikarditis je retka akutna komplikacija, dok se hronični perikarditis, koronarna bolest, kardiomiopatija i poremećaj ritma mogu javiti nakon nekoliko godina od završenog tretmana. U literaturi ove komplikacije se sreću veoma retko.

Radijacioni pneumonitis se smatra signifikantnim tek onda kada je gradusa II. Klinički se manifestuje bolom u grudima, nadražajnim kašljem i povišenom temperaturom. Izlaganje velikog volumena pluća čak i malim dozama zračenja nosi visok rizik od radijacionog pneumonitisa. S toga, je veoma važno ograničiti volumen pluća koji će se naći u zračnom polju. Iako se danas planiranje zračenja vrši u zavisnosti od volumena pluća koji prima 20 Gy ($V_{20} < 25-30\%$), za sada nema sigurne margine kojom se radijacioni pneumonitis izbegava. Novija istraživanja savetuju da volumen pluća koji prima 5Gy (V_5) treba ograničiti na 50%. Kako su pluća veoma osetljiv organ od rizika, samim tim ograničavaju eskalaciju doze na jednjak tako da ona retko prelazi 50,4 Gy. Ipak, radijacioni pneumonitis gradusa II i više u literaturi se sreće ispod 5%.

Kako se doza na kičmenu moždinu strogo ograničava na 45Gy, radijacioni mijelitis danas se praktično ne javlja.

Preživljavanje bolesnika sa karcinomom jednjaka, na žalost, nije zadovoljavajuće. Zbog toga se nema pravi uvid u pojavu i opsežnost kasnih komplikacija za čiju je pojavu nekad potrebno i više godina (89- 93).

1.3.3. HEMIOTERAPIJA

Obzirom da se kod karcinoma jednjaka sistemska proširenost bolesti javlja vrlo rano, hemioterapija je našla svoje mesto u terapijskom pristupu. Uvođenje hemioterapije ima za cilj smanjenje veličine tumora (downsizing), povećanje stope resektabilnosti tumora i eradikaciju mikrometastaza u limfnim žlezdama i udaljenim organima. Iako brojni hemioterapijski agensi pojedinačno pokazuju antitumorsku aktivnost kod karcinoma jednjaka, najpovoljniji terapijski odgovor je zabeležen primenom Cisplatine, 5-Fluorouracila, Mitomicina, Vinblastina, Bleomicina i, u poslednje vreme, Paklitaksela. Ostali hemioterapeutici kao što su Oksaliplatin, Irinotekan, Gemcitabin, Vinorelbin, Docetaksel, Kapecitabin i monoklonska antitela Bevacizumab i Cetuksimab su još uvek u eksperimentalnoj fazi (47, 94).

Cisplatin (*CDDP-Platinum diamine dichlorid, cis*) pripada grupi sintetskih alkilirajućih citostatika. Mehanizam dejstva se zasniva na unakrsnom vezivanju za komplementarne lance DNK sa predilekcijom vezivanja za azotnu bazu guanin pri čemu deluje kao bifunkcionalni alkilirajući agens (inkorporiranje u lanac DNK i inhibicija DNK sinteze). Nespecifičan je za fazu ćelijskog ciklusa, mada najveću senzitivnost in vitro ispoljava u G1 fazi. Brzo se eliminiše iz plazme i nakon jednog sata u plazmi zaostaje samo 10% citostatika. Toksični efekti uključuju mučninu, povraćanje, porast transaminaza, leukopeniju, trombocitopeniju, anemiju, dok kumulativna doza može ispoljiti nefrotoksični efekat. Periferna neuropatija i anafilaksa retko se viđaju.

5-Fluorouracil (*5FU*) pripada grupi antimetabolita. Ovaj citostatik pokazuje afinitet za enzim timidilat sintazu, neophodnu za sintezu timina,

pirimidinske baze DNK. Svoje dejstvo ostvaruje blokiranjem sinteze timidilata, a time indirektno i DNK. Takođe, umeće se kao nukleotid u RNK čime remeti njemu sintezu blokiranjem inkorporacije uracila i orotične kiseline. Specifičan je za S fazu ćelijskog ciklusa. U organizmu se kataboliše redukcijom i 60% do 80% se eliminiše respiracijom kao CO₂, dok se ostalih 10% do 15% eliminiše urinom nakon 6 sati. Kao neželjeni efekti navode se gubitak apetita, mučnina i povraćanje, zatim stomatitis, dijareja, alopecija i dermatitis, a od hematoloških leukopenija, trombocitopenija i anemija.

Mitomycin (*Mytomycin*) se svrstava u grupu antitumorskih antibiotika, izolovan iz bakterije *Streptomyces*. Nakon što biva aktiviran od strane intraćelijskog reduktivnog enzimskog sistema, pokazuje aktivnost bifunkcionalnog ili funkcionalnog alkilirajućeg citostatika. Aktiviran dovodi do unakrsnog vezivanja lanaca DNK, blokira de novo sintezu DNK, ali ne i njegovu reparaciju. Smatra se da ispoljava specifičnost za pojedine faze ćelijskog ciklusa tako da kasna G1 i rana S faza pokazuju najveću osetljivost, dok je G2 faza najmanje osetljiva. Primarno se metaboliše u jetri i brzo eliminiše iz plazme. Oko 20% se eliminiše urinom. Mučnina, povraćanje i gubitak apetita, kao neželjena dejstva, obično su blagog intenziteta. Međutim, hematološka toksičnost može biti značajna, a kumulativna doza čak dovesti do mijelosupresije. Kao kumulativni efekat može se ispoljiti i nefrotoksičnost. Alopecija i intersticijalni pneumonitis retko se javljaju.

Bleomycin (*Bleomycin*) se takođe svrstava u grupu antitumorskih antibiotika. Inhibira DNK sintezu, dovodi do presecanja jednolančane DNK i inhibira DNK reparaciju jakim inhibitornim uticajem na DNK ligazu. Specifičan je za G2 fazu ćelijskog ciklusa, ali je aktivan i u G1 fazi i ranoj S i M fazi. Intravenski aplikovan postiže najveću koncentraciju u koži, plućima, bubrezima, peritoneumu i limfnim žlezdama, a eliminiše se urinom u toku 24 h. Pored uobičajenih neželjenih dejstava kao što su mučnina i povraćanje, javljaju se stomatitis, alergijske reakcije (hiperpireksija, groznica) do hipotenzije i kardiorespiratornog kolapsa u retkim slučajevima. Reakcije na koži uključuju deskvamaciju kože dlanova, stopala i na mestima pritiska, brazdanje noktiju, hiperpigmentaciju i alopeciju. Obzirom da

visoku koncentraciju postiže u plućima, moguća je pojava intersticijalnog pneumonitisa i fibroze pluća.

Vinblastin (*Velban, Velbe*) pripada grupi biljnih alkaloida, takozvanih „vinka“ alkaloida. Ekstrahuje se iz biljke *Catharanthus roseus* ili *Vinca rosea*. Njegov hemijski analog je Vinkristin. Dejstvo ostvaruje u M fazi ćelijskog ciklusa za koju je specifičan. Vezuje se za belančevinu tubulin mikrotubula deobnog vretena neophodnih za separaciju hromozoma u anafazi ćelijskog ciklusa. Time izaziva mitotski arest u S fazi ćelijskog ciklusa. Takođe, inhibira sintezu RNK delujući na DNK-zavisni RNK polimerazni sistem. Oko 80% se vezuje za belančevine plazme i primarno eliminiše bilijarnim putem, a manjim delom urinom. Najčešća neželjena reakcija je leukopenija koja može i da limitira dozu, a javlja se 5-10 dana od primene citostatika. Trombocitopenija i anemija se javljaju retko, a mučnina i povraćanje se lako kontrolišu. Kao retka toksičnost zabeleženi su paralitički ileus i neurološka simptomatologija (senzorna neuropatija, parestezija, ataksija)(95).

Leukovorin (*Leucovorin, Folinska kiselina*) je pomoćni lek koji se koristi u hemioterapiji kancera primenom metotreksata i 5-fluorouracila. Generalno se dozira kao kalcijum ili natrijum folinat (ili leukovorin kalcijum/natrijum). Levofolinska kiselina i njene soli su enantiočisti lekovi (u ovom slučaju, levo forma), i oni su biološki aktivna forma folinske kiseline. Kombinovanjem sa metotreksatom služi kao protektor kostne srži i gastrointestinalne mukoze, ali kombinovanjem sa 5FU nema protektivnu ulogu, već deluje kao pojačivač dejstva 5FU inhibicijom timidilat sintaze (96).

Paklitaxel (*Paclitaxel*) je mitotski inhibitor sintetisan 1967. iz drveta *Taxus brevifolia*, a kasnije i iz endofitčnih gljiva. Paklitaxel je jedan od mnogih citoskeletnih lekova koji ima afinitet za tubulin. Vezivanjem za tubulin stabilizuje polimere mikrotubula deobnog vretena i sprečava njihovo razdvajanje tako da hromozomi ne mogu da postignu metafaznu konfiguraciju čime se blokira deoba ćelije i aktivira apoptoza. Toksičnost primene ovog leka uključuje gubitak apetita, mučninu i povraćanje, promenu ukusa, bolove u zglobovima. Kao teže neželjene

reakcije navode se raš kože, dispnea, bol u grudima, crvenilo lica, kašalj, neočekivano krvarenje, otežano gutanje, vrtoglavica i infertilitet (97).

Izolovana primena hemioterapije u uznapredovalom i metastatskom stadijumu karcinoma jednjaka dala je skromne rezultate. Stopa terapijskog odgovora iznosi oko 20%-40%, a medijana preživljavanja 8-10 meseci. Nešto bolji terapijski odgovor (50%) se postiže polihemioterapijskim pristupom, najčešće kombinacijom Cisplatin/5FU, ali bez uticaja na preživljavanje. Nezadovoljavajući rezultati primene hemioterapije kao monoterapijskog režima usmerili su istraživanja ka kombinovanim pristupima.

Postoperativna primena hemioterapije naišla je na niz problema. Na prvom mestu prolongiran oporavak ezofagektomisanih bolesnika često odlaže blagovremenu aplikaciju hemioterapije čime ona gubi svoj adjuvantni smisao. Takođe, dosadašnja istraživanja u tom pravcu nisu ukazala na opravdanost adjuvantne hemioterapije uzimajući u obzir da nije postignut značajan benefit u petogodišnjem preživljavanju. Dve velike Japanske randomizovane studije (Ando 1997. i 1999. godine) poredile su petogodišnje preživljavanje samo operisanih bolesnika i onih koji su po operaciji primali dva ciklusa hemioterapije (u prvom trajalu Cisplatin/Vindesin, a u drugom Cisplatin/5FU). Nije uočena statistički značajna razlika u ukupnom petogodišnjem preživljavanju, mada je u grupi koja je postoperativno primala Cisplatin/5FU uočeno bolje preživljavanje bez znakova bolesti kod bolesnika sa pozitivnim limfnim žlezdama (98,99).

Racionale preoperativne primene hemioterapije su smanjenje veličine primarnog tumora, povećanje stope resektabilnosti, eradikacija mikrometastaza i potencijalno poboljšanje ukupnog preživljavanja i preživljavanja bez znakova bolesti. Brojni trajali su sprovedeni u tom smislu uvođenjem neoadjuvantne hemioterapije uglavnom na bazi Cisplatin/5FU. Stopa kliničkog odgovora kreće se oko 40%-65%, patohistološkog kompletnog odgovora 0%-10%, a stopa resektabilnosti 40%-80%. Srednje vreme preživljavanja iznosi 18-28 meseci. Međutim, ovi trajali su uključivali samo mali broj bolesnika (ispod 150), mnogi nisu bili randomizovani, a pojedini nisu bili ni adekvatno dizajnirani (94, 100,101).

Objavlivanjem rezultata velikog Britanskog trajala 2002. godine (*Medical Research Council-OE02*) koji je uključio preko 800 bolesnika sa karcinomom jednjaka uočeno je statistički značajno poboljšanje ukupnog preživljavanja u grupi bolesnika koja je primala neoadjuvantnu hemioterapiju u odnosu na samo operisane bolesnike. U North American Intergroup trajalu, drugom najvećem trajalu, sprovedenom u SAD na preko 400 bolesnika sa karcinomom jednjaka ta razlika nije uočena (tabela 5) (102, 103).

Tabela 5. Hemioterapijski trajali koji porede preoperativnu hemioterapiju i izolovanu hirurgiju karcinoma jednjaka

	N	R0 resekcija (%)	5-godišnje ukupno preživljavanje (%)	
North American Intergroup Trial 113				
Cisplatin/5FU+hirurgija	213	62	23	NS
Hirurgija	227	59	23	
Medical Research Council				
Cisplatin/5FU+hirurgija	400	60	23	SG
Hirurgija	402	54	17	

N-broj bolesnika, 5FU-5Fluorouracil, NS-not significant, SG-significant

Oba trajala, ipak, tretirala su bolesnike sa inicijalno resektabilnim karcinomom svih histologija. S druge strane, Ancona 1997. objavljuje rezultate indukcionih hemioterapija na bazi Cisplatin/5FU kod T4, N0/+, M0 bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka u poređenju samo sa hirurgijom. Uočeno je poboljšanje stope resekcije (53% vs 19%) kao i petogodišnjeg preživljavanja (29% vs 22%) u korist grupe koja je primala hemioterapiju (104).

1.3.4. KOMBINOVANA HEMIO-RADIOTERAPIJA

Budući da hemioterapija i radioterapija pojedinačno imaju skroman antitumorski efekat kod karcinoma jednjaka, istraživanja su se usmerila ka kombinovanoj hemio-radioterapiji. Rezultati *Radiation Therapy Oncology Group* trajala faze III (RTOG 85-01) 1999. godine, ukazali su na značajan benefit

konkomitantne hemio-radioterapije kod neoperisanih bolesnika u poređenju sa radikalno zračenim bolesnicima. Ovaj trajal poredio je konvencionalnu radioterapiju tumorskim dozama ranga 64Gy i konkomitantnu hemio-radioterapiju u režimu Cisplatin/5-FU+TD 50Gy. Analiziranjem 126 bolesnika uočena je bolja medijana ukupnog preživljavanja u grupi koja je primala kombinovanu terapiju u odnosu na grupu radikalno zračenih bolesnika (14,1 vs 9,3 meseci). Dvogodišnje preživljavanje je takođe bilo bolje u hemio-radioterapijskoj grupi (38% vs 10%), dok je petogodišnje preživljavanje iznosilo 26% prema 0% u korist hemio-radio grupe. Lokalna kontrola bolesti govorila je u prilog dodavanja hemioterapije radioterapiji. Nakon godinu dana, u grupi koja je primala kombinovanu terapiju, stopa lokalnog recidiva iznosila je 44%. U grupi radikalno zračenih bolesnika ovaj procenat je iznosio 62% (88). RTOG 90-12 trajal u kojem je konkomitantnoj hemio-radioterapiji dodata i indukciona hemioterapija nije pokazao značajne rezultate (105). Eskalacija doze zračenja na 64,8 Gy u kombinovanom režimu takođe se nije pokazala superiornijom od standardne doze od 50,4Gy (106). Na osnovu ovih rezultata, standardni kombinovani režim danas uključuje Cisplatinu ili Mitomicin uz kontinuiranu infuziju 5-fluorouracila (5-FU) i konkomitantnu radioterapiju tumorskim dozama ranga 50Gy u 25 frakcija (2 Gy dnevno, 5 dana u nedelji). Ovaj režim rezultira stopom patohistološkog kompletnog odgovora (pCR) od 20-40%, međutim dugoročno preživljavanje nije više od 25-35% (40% na dve godine). Najviši procenat preživljavanja (50-60% na 5 godina) uočen je kod pacijenata sa pCR na hemio-radioterapiju (47).

Pitanje preoperativne hemio-radioterapije otvorilo se krajem prošlog veka. U periodu od 1985. do 1987. godine, na Univerzitetu Mičigen, sprovedena je pilot studija koja je analizirala preoperativnu hemioterapiju u režimu Cisplatin, Fluorouracil, Vinblastin u kombinaciji sa radioterapijom tumorskim dozama ranga 45Gy kod 43 bolesnika sa lokoregionalnom bolešću. Ovi bolesnici poređeni su sa radikalno operisanim bolesnicima. Medijana preživljavanja je iznosila 29 meseci u odnosu na 10 meseci u grupi radikalno operisanih bolesnika. Optimistički rezultati diktirali su dalja istraživanja. Nakon objavljivanja ovih rezultata, najmanje sedam

randomizovanih trajala analiziralo je benefit konkomitantne preoperativne hemio-radioterapije u odnosu na izolovanu hirurgiju (Tabela 6) (7,107-113).

Tabela 6. Randomizovani trajali koji porede preoperativnu hemio-radioterapiju sa izolovanom hirurgijom karcinoma jednjaka (7)

	N	Histologija	HT	RT (Gy)	Medijana preživljavanja (meseći)	3-godišnje preživljavanje (%)
Nygaard ¹⁰⁷						
Hirurgija	41	Skvamo celularni	Cisplatin /Bleomicin	35	NA	9
Preop.HT+RT	47				NA	13
Le Prise ¹⁰⁸						
Hirurgija	41	Skvamo celularni	Cisplatin/ 5FU	20	10	14
Preop.HT+RT	45				10	19
Walsh ¹⁰⁹						
Hirurgija	55	AdenoCa	Cisplatin/ 5FU	40	11	6
Preop.HT+RT	58				16	32
Bosset ¹¹⁰						
Hirurgija	139	Skvamo celularni	Cisplatin	37	19	37
Preop.HT+RT	143				19	39
Urba ¹¹¹						
Hirurgija	50	Skvamo celularni (25%) AdenoCa (75%)	Cisplatin/ Vinblastin/ 5FU	40	18	16
Preop.HT+RT	50				17	30
Burmeister ¹¹²						
Hirurgija	128	Skvamo celularni (39%) AdenoCa (61%)	Cisplatin/ 5FU	35	22	NA
Preop.HT+RT	128				19	NA
Apinop ¹¹³						
Hirurgija	34	Skvamo celularni	Cisplatin/5FU	40	7	20
Preop.HT+RT	35				10	26

N-broj bolesnika, HT-hemioterapija, RT-radioterapija, AdenoCa-Adenokarcinom Preop.-preoperativna, 5FU-5fluorouracil, NA-not available

Nažalost, šest od sedam ovih trajala nije ukazalo na benefit od preoperativne kombinovane hemio-radioterapije u smislu preživljavanja. Takođe, samo dva trajala uključila su dovoljan broj bolesnika za adekvatne statističke zaključke i ni jedan nije ukazao na prednost uvođenja hemio-radioterapije. Samo je

trajal Walsh-a i saradnika koji je uključio 113 bolesnika sa adenokarcinomom jednjaka ukazao na poboljšano trogodišnje preživljavanje u grupi bolesnika koji su primali preoperativnu hemio-radioterapiju (Cisplatin/5FU+radioterapija 40Gy) u odnosu na grupu radikalno operisanih bolesnika (32% vs 6%) (109). Iako su definitivni rezultati ovog trajala bili nejasni (kratko vreme praćenja od samo 1,5 godine, neadekvatno stadiranje bolesti, neočekivano loše preživljavanje radikalno operisanih bolesnika), uticaj na onkologe širom sveta je bio značajan. Noviji trajali (Urba 2001, Burmeister 2005.), doduše, jesu ukazali na bolju lokalnu kontrolu bolesti i poboljšanu stopu resektabilnosti u grupi kombinovano lečenih bolesnika u odnosu na samo operisane bolesnike, ali trogodišnje preživljavanje nije bilo statistički značajno. Šta više, značajan terapijski morbiditet bacio je senku na kombinovani pristup (111, 112). Konačno, noviji *Cancer and Leukemia Group B (CALGB)* trajal uključio je 9781 bolesnika sa karcinomom jednjaka. Bolesnici su randomizovani na grupu koja je primala preoperativno dva ciklusa Cisplatin/5FU hemioterapije konkomitantno sa radioterapijom i grupu samo operisanih. Uočena je značajno poboljšana medijana preživljavanja u grupi kombinovano lečenih bolesnika (4,5 vs 1,8 godina) kao i bolje petogodišnje preživljavanje (39% vs 16%) (114). Velika meta-analiza Gebskog i saradnika koja je uključila deset trajala preoperativne hemio-radioterapije i osam trajala preoperativne hemioterapije ukazala je na značajno poboljšanje preživljavanja u hemio-radioterapijskoj grupi (43). Meta-analiza Kaklamanos i saradnika potvrđuje ove rezultate (115).

Zadovoljavajući rezultati ali i značajna toksičnost multimodalnog tretmana otvorili su pitanje primene hirurgije nakon neoadjuvantne hemio-radioterapije. Nemačka studija Stahl-a i saradnika ispitivala je 172 bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka. Bolesnici su randomizovani u dve grupe. Prva je primala indukcionu hemioterapiju tri ciklusa Cisplatin/5FU/Leukovorin, a potom konkomitantnu hemio-radioterapiju (Cisplatin/Etopozid+radioterapija 40Gy) nakon čega su operisani. Druga grupa je primala isti indukcionu i konkomitantni režim, ali bez hirurgije. Iako je vreme do progresije bilo bolje u grupi operisanih bolesnika (64,3% vs 40,7% na dve godine), ukupno preživljavanje

se nije značajno razlikovalo. Šta više, zapažen je značajni morbiditet i mortalitet u grupi operisanih bolesnika (116). Francuska grupa (FFCD 9102) sprovedla je studiju na 444 bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka. Ovi bolesnici su primali inicijalno konkomitantnu Cisplatin/5FU hemioterapiju i radioterapiju. Oni koji su odgovorili na inicijalni tretman randomizovani su na grupu bolesnika koja je podvrgnuta operaciji i onu koja je primala dodatna tri ciklusa iste hemioterapije. Dvogodišnje ukupno preživljavanje se nije razlikovalo u ove dve grupe (34% u grupi operisanih vs 40% u grupi neoperisanih bolesnika). Lokoregionalni relaps je bio češći u grupi neoperisanih bolesnika (43% vs 34%), ali je mortalitet bio značajno veći u grupi operisanih (9,3% vs 0,8%). Ova studija je zaključila da bolesnici koji odgovore na hemio-radioterapiju nemaju značajan benefit od adjuvantne hirurgije u smislu preživljavanja (117).

Na osnovu navedenih rezultata nametnulo se pitanje benefita od adjuvantne hirurgije kod bolesnika koji ne odgovore na hemio-radioterapiju. Yano i saradnici registrovali su duže preživljavanje kod operisanih bolesnika sa parcijalnim odgovorom na hemio-radioterapiju nego kod neoperisanih sa kompletnim odgovorom kod T4 skvamocelularnog karcinoma jednjaka. Ancona prikazuje petogodišnje preživljavanje od 29% kod bolesnika sa T4 skvamocelularnim karcinomom jednjaka koji su odgovorili na hemio-radioterapiju i nakon toga imali R0 resekciju (44). Takođe, u Francuskom trajalu, bolesnici koji nisu odgovorili na hemio-radioterapiju, ali su operisani R0 resekcijom, imali su ukupno preživljavanje komparabilno onima koji su na hemio-radioterapiju odgovorili (47). Rezultati Hennequin i saradnika su u korelaciji sa Francuskim, budući da upućuju na to da ezofagektomija nakon konkomitantne hemio-radioterapije može da poboljša stopu preživljavanja, posebno kod bolesnika sa inkompletnim odgovorom na neoadjuvantnu terapiju (118).

Preoperativna hemio-radioterapija povezana je sa mogućim ozbiljnim komplikacijama kako u toku same primene tako i perioperativno (119). Akutne komplikacije se najčešće ispoljavaju u vidu hematotoksičnosti, odnosno leukocitopenije pri čemu se procenat komplikacija gradusa 3 kreće od 13 do 57%.

Nehematološka toksičnost (disfagija, infekcija, bol i dr.) gradusa 3 javlja se u najmanje 10% slučajeva. Od perioperativnih komplikacija najčešće se navode pneumonije, respiratorna insuficijencija, curenje anastomoze, traheoezofagealna fistula, pa i tromboza dubokih vena i plućna embolija (45, 114, 120).

1.4. TUMORSKI REGRESIONI GRADUS (TRG)

Uprkos brojnim trajalima faze II i III, efekat multimodalnog tretmana ostaje nejasan, a njegov uticaj na preživljavanje kontroverzan. Pa ipak različite studije konstantno dolaze do jednog zaključka, a to je poboljšanje stope preživljavanja bolesnika kod kojih je hemio-radioterapija dovela do potpunog patohistološkog tumorskog odgovora (pCR), kao i onih kod kojih je bila moguća R0 resekcija. Berger i saradnici u svojoj studiji beleže bolje petogodišnje ukupno preživljavanje (48% vs 18%) kao i petogodišnje vreme do progresije (62% vs 42%) kod 171 bolesnika sa invazivnim karcinomom jednjaka koji su nakon indukciono hemio-radioterapije imali tumorsku regresiju sa inicijalnog na stadijum 0 ili 1 u odnosu na one sa izostankom terapijskog odgovora. Dodatak hirurgije takođe je značajno uticao na ukupno preživljavanje kao i preživljavanje bez znakova bolesti (35% vs 10% na pet godina za bolesnike sa R0 resekcijom i one sa R+ resekcijom). Rothagi, takođe, beleži značajno bolje ukupno preživljavanje bolesnika sa pCR u odnosu na one sa nekompletnim odgovorom (medijana: 133 meseci vs 34 meseci), kao i značajno bolje preživljavanje bez znakova bolesti. Ancona čak daje podatak o trogodišnjem i petogodišnjem preživljavanju od 74% i 60% kod bolesnika sa pCR na indukcionu terapiju koji su potom podvrgnuti radikalnoj hirurškoj resekciji. I rezultati Chirieac i saradnika iz 2005. godine su u korelaciji sa navedenim (120-123).

Međutim, iako procenat petogodišnjeg preživljavanja ovih bolesnika u pojedinim studijama iznosi i do 70%, kompletan tumorski odgovor na hemio-radioterapiju se očekuje kod svega 20-30% bolesnika (124).

Do danas ne postoji univerzalno prihvaćen sistem procene i klasifikacije rezidualnog tumora nakon hemio i/ili radioterapije, iako je nekoliko sistema u kliničkoj upotrebi. Japansko udruženje za bolesti jednjaka je prvo izdalo sistem gradiranja tumorske regresije karcinoma jednjaka nakon hemio i/ili radioterapije. Ovaj sistem se bazira na tome da li tumorske ćelije zahvataju više od jedne trećine ispitivanog uzorka, manje od jedne trećine, ili ih uopšte nema. U cilju određivanja

stepena regresije tumora, odnos vijabilnog i nekrotičnog tkiva u resekovanom tumoru nakon kombinovanog lečenja na sličan način se procenjuje i kod skvamocelularnih karcinoma druge lokalizacije, kao što je na primer glava i vrat (125-128).

Uvođenjem Mandard kriterijuma devedesetih godina prošlog veka, patohistološki odgovor (tumorski regresioni gradus -TRG) se kvantifikuje u 5 gradusa. Multivarijantne analize pokazale su da je TRG značajan prediktor ukupnog preživljavanja i preživljavanja bez znakova bolesti, u korist visokog histološkog odgovora tumora (TRG 1-3 vs TRG 4-5, relativni rizik 2,87, $p < 0,001$).

Ovaj kriterijum na isti način tretira i primarni tumor i metastatski izmenjene limfne žlezde, a bazira se na histološki verifikovanim regresivnim promenama kako u samoj tumorskoj ćeliji tako i u stromi tumora. Citološki, analiziraju se citoplazmatska vakuolizacija, i/ili eozinofilija, piknoza jedra i nekroza. Stromalne promene uključuju fibrozu sa ili bez inflamatorne komponente, uključujući „giant cell“ granulome oko „ghost“ ćelija i keratin. Fibroza može biti čvrsta, sa velikom količinom kolagena, ili edematozna.

Na osnovu ovih karakteristika, regresija primarnog tumora se klasifikuje u pet kategorija:

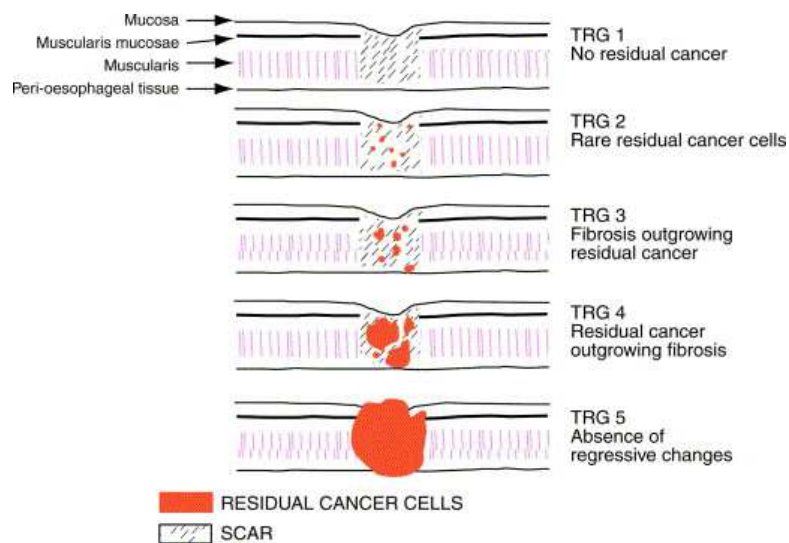
Gradus 1: odsustvo histološki uočljivog rezidualnog karcinoma, fibroza koja se prostire kroz različite slojeve zida jednjaka sa ili bez granuloma.

Gradus 2: prisustvo retkih rezidualnih kancerskih ćelija rasutih u fibrozi

Gradus 3: veliki broj rezidualnih kancerskih ćelija, ali sa predominacijom fibroze

Gradus 4: rezidualne kancerske ćelije dominiraju nad fibrozom

Gradus 5: odsustvo regresivnih promena (slika 22) (128)



Slika 22: Mandard klasifikacija-šematski prikaz
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0748798305002611>

Danas se ovaj sistem smatra jednostavnom i preciznom metodom za procenu tumorskog odgovora na kombinovanu hemio-radioterapiju koji nam pruža dragocene kliničke, ali i prognostičke smernice.

1.5. PROGNOŠTIČKI I PREDIKTIVNI I FAKTORI

Iako preživljavanje bolesnika sa histopatološki kompletnom regresijom tumora na primenjenu hemio-radioterapiju može da se smatra zadovoljavajućim, toksičnost samog tretmana ne sme da se zanemari (129). Potencijalno ozbiljne komplikacije pogađaju sve bolesnike bez obzira na odgovor na hemio-radioterapiju što praktično znači da određen broj bolesnika prima toksičnu terapiju na koju neće odgovoriti. S toga je od velikog značaja identifikacija pojedinih prediktivnih i prognostičkih faktora koji ukazuju na potencijalno dobar odgovor na hemio-radioterapiju i duže preživljavanje.

Prognostički faktor je varijabla koja pokazuje da su neke heterogenosti tumora povezane sa tokom bolesti i njenim ishodom. S druge strane, *prediktivni faktor* je termin koji se obično koristi u kontekstu odgovora tumora na neki terapijski pristup. Ovi faktori zavise od karakteristika bolesnika, a pogotovo od karakteristika samog tumora, i njihova identifikacija nam može pomoći u odabiru najboljeg terapijskog modaliteta za svakog bolesnika individualno (130).

Najčešće korišćeni prognostički faktori u kliničkoj praksi su proširenost bolesti (stadijum), histološki tip tumora, zatim histološki gradus, invazija limfnih žlezda ili krvnih sudova, opšte stanje pacijenta kao i genetski i biohemijski markeri. Grubo, ovi faktori se mogu podeliti u tri grupe: faktori vezani za pacijenta (starost, pol, rasa, genetsko opterećenje, imuni status i pridružene bolesti), za tumor (stadijum, histološki tip, gradus, prisustvo metastaza, hormonski receptori, biohemijski markeri i dr.) i terapijski modalitet.

U dosadašnjim studijama analizirane su brojne preterapijske karakteristike bolesnika i samog tumora u smislu prognostičke značajnosti kao što su: godine starosti, pol, opšte stanje, gubitak telesne težine, stadijum tumora, status limfnih žlezda, histološki tip i gradus, i drugi. Rezultati variraju, ali se ističu stadijum tumora i status limfnih žlezda za koje se kroz multivarijantne analize ispostavilo da su nezavisni prognostički faktori u smislu preživljavanja. Više od 5 pozitivnih limfnih žlezda se smatra značajnim negativnim prognostičkim faktorom (hazard ratio (HR) 1,29), dok dužina tumora (>6 cm vs <6 cm) ima graničnu značajnost.

Mnogo značajniji prognostički faktor je dubina invazije zida jednjaka, za koju se pokazalo da visoko korelira sa rizikom od smrtnog ishoda kako se ova dubina povećava (HR 1,15). Takođe, lokalizovana bolest (T1 i T2) ukazuje na značajno bolju prognozu u odnosu na uznapredovale stadijume (HR 0,82). Uočeno je i da bolesnici sa karcinomom jednjaka distalne trećine imaju veći rizik za mortalitet od onih sa karcinomom cervikalnog ili gornjeg torakalnog jednjaka (131). Crna rasa nosi povećan rizik u odnosu na belu rasu, mada razlika nije statistički značajna, dok godine starosti bolesnika značajno negativno korelišu sa preživljavanjem (53,130, 132). Kelsen i saradnici navode gubitak u telesnoj težini kao statistički značajan negativni prognostički faktor. Naime, bolesnici koji imaju gubitak u telesnoj težini za više od 10% imaju veći rizik od smrtnog ishoda (103). Druge studije, pak, nisu potvrdile ovo stanovište kada se u multivarijantne analize uključi i opšte stanje bolesnika. Budući da bolesnici lošeg opšteg stanja (PS>2) često imaju značajan gubitak u telesnoj težini, danas se opšte stanje bolesnika smatra značajnim prognostičkim faktorom (130, 133). Mikroskopski pozitivne resekcione margine, s druge strane, nisu se pokazale kao značajan prognostički faktor u smislu preživljavanja (53).

Kao što je ranije navedeno, odgovor na hemio-radioterapiju se kroz studije pokazao najznačajnijim prognostičkim faktorom u smislu preživljavanja. Bolesnici sa kompletnim odgovorom na hemio-radioterapiju imaju stopu petogodišnjeg preživljavanja oko 50-60%, dok se ovaj procenat kreće oko 10-20% za bolesnike koji na kombinovanu terapiju nisu odgovorili (134-136). S toga je danas pažnja usmerena na molekularne markere koji ukazuju na biološku agresivnost tumora i očekivani odgovor na primenjenu terapiju. U poslednje dve decenije pojavila se prava eksplozija novih biomarkera od kojih mnogi imaju prognostičku i prediktivnu vrednost, a brojni centri donose konsenzuse i nomograme prognostičkih faktora u cilju boljeg razumevanja prirode tumora i unapređenja terapijskog pristupa. Među najznačajnijim molekularnim markerima su: receptor za epidermalni faktor rasta (Engl. *Epidermal Growth Factor Receptor-EGFR*), vaskularni endotelni faktor rasta (Engl. *Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF*),

proliferativna aktivnost (MIB-1), kapilarna gustina (CD34) p21, p53, Ki-67, c-erbB-2 (HER-2/neu), Ku (p70/p80), DNK-PKcs, nuklearni faktor-kB (NF-kB), timidilat sintaza (TS-1), Glutation S transferaza Pi (GSTP1) i drugi (137-143).

Prognostička i prediktivna značajnost EGFR dokazuje se već godinama. EGF receptor je definisan ekstracelularnim ligand-vezujućim specifičnim mestom, transmembranskim domenom i intracelularnim domenom sa tirozin kinaznom aktivnošću. Kao i HER-2, i EGFR pripada familiji c-erb receptora, i uključen je u ćelijsku proliferaciju, diferencijaciju i migraciju u fiziološkim uslovima. Aktivirana tirozin-kinaza dovodi do autofosforilacije tirozina koji dalje vrši fosforilaciju nekoliko intraćelijskih supstrata odgovornih za mitotsku i drugu ćelijsku aktivnost (transkripciju, apoptozu). U procesu kancerogeneze preterana ekspresija, ali i promena u strukturi i funkciji EGF receptora, vodi u abnormalnu ćelijsku proliferaciju.

Skvamocelularni karcinomi pokazuju visok nivo ekspresije EGFR, a ova hiperprodukcija EGF receptora zasniva sa na različitim mehanizmima kao što su genska amplifikacija, aktivacija mutacija, promene u transkripcionoj ili translacionoj kontroli, promene u procesu dimerizacije, aktivacija autokrinih ciklusa stimulacije faktora rasta i nedostatak specifične fosfataze. Kod skvamocelularnog karcinoma jednjaka nivo ekspresije EGFR se kreće oko 46-72% (144-149). Usled genske amplifikacije u kombinaciji sa povećanom aktivacijom samog receptora, dovodi do autonomnog ćelijskog rasta, vaskularne invazije, angiogeneze i brze pojave metastaza u limfnim žlezdama kao i udaljenih metastaza (150). Osamdesetih godina prošlog veka, Ozawa i saradnici su sproveli brojna istraživanja EGF receptora kod karcinoma jednjaka, ali i pluća, pankreasa, kolorektuma, dojke i želuca. Rezultati su pokazali da je visok nivo ekspresije EGFR u korelaciji sa brzim tumorskim rastom, brzom pojavom regionalnih i udaljenih metastaza i lošijim preživljavanjem (151). Velika studija Itakura i saradnika na 217 bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka pokazala je povećanu ekspresiju EGFR u 71% uzoraka primarnog tumora i 88% pozitivnih limfnih nodusa. Ova studija analizirala je i odnos nivoa EGFR sa karakteristikama samog

tumora kao što su njegova veličina, nodalni status i histološki gradus. Iako nije uočena statistički značajna razlika između EGFR pozitivnih i negativnih uzoraka zabeležen je veći broj slabo diferentovanih karcinoma u EGFR pozitivnoj grupi. U ovoj grupi, takođe, zabeležen je i nešto veći broj uznapredovalih tumora kao i dublja invazija zida (152). Nešto ranije, Mukaida i saradnici uočili su pozitivnu EGFR ekspresiju u preko 90% uzoraka skvamocelularnih karcinoma jednjaka koja je jasno ukazivala na slabiju diferencijaciju samog tumora. Ovi bolesnici imali su i lošije preživljavanje (153).

Ispitivanje asocijacije nivoa ekspresije EGFR i odgovora karcinoma jednjaka na hemio i radioterapiju počelo je tek devedesetih godina prošlog veka. 1994. godine Hickey i saradnici sprovedi su studiju na 14 bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka lečenih hemio-radioterapijom. Osam od 9 bolesnika koji su odgovorili na ovu terapiju bilo je EGFR negativno. Takođe, zabeleženo je i statistički značajno bolje preživljavanje u EGFR negativnoj grupi (154). Bolje preživljavanje EGFR negativnih bolesnika potvrdio je i Gibson 2003. godine u svojoj studiji na 92 bolesnika (155). S druge strane, nema dovoljno dokaza da je povećana ekspresija EGFR povezana sa lošijim odgovorom na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju. Miyazono i saradnici nisu uočili uticaj preterapijskog nivoa ekspresije EGFR i histološkog odgovora na hemio-radioterapiju po CDDP/5FU režimu kod 36 bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka (156), kao ni Akamatsu i saradnici u svojoj studiji (157).

Danas postoji cela strategija specifične terapije usmerene direktno na EGFR koja je našla svoju primenu u terapiji karcinoma glave i vrata kao i nemikrocelularnog karcinoma pluća. Ona se ostvaruje na nekoliko načina: monoklonskim antitelima koja se vezuju za ekstracelularni domen receptora, malim molekulima koji inhibiraju intracelularni tirozin-kinazni domen receptora, konjugatima imunotoksina koji putem vezivanja za EGF receptor uvode toksin u tumorsku ćeliju, redukcijom nivoa EGFR pomoću oligonukleotida i blokiranjem signalnog puta aktiviranog receptora. Za sada su prva dva načina nešto više ispitivana, mada je ceo proces još uvek u eksperimentalnoj fazi (144). Prvi

optimistični rezultati trajala faze II pojavljuju se sada nakon ispitivanja monoklonskih antitela usmerenih na ekstracelularni domen EGF receptora kao što su cetuximab, matuzumab i panitumumab, mada su za sada objavljeni samo u formi abstrakta. U drugoj liniji terapije uznapredovalog skvamocelularnog karcinoma jednjaka, postoje izvesni rezultati stabilizacije bolesti primenom tirozin-kinaznih inhibitora kao što su erlotinib i gefitinib, mada su neophodna dodatna ispitivanja (137, 148).

Opšte je poznato da vaskularna mreža tumora služi za njegovu ishranu i rast. Šta više, angiogeneza predstavlja slobodan put hematogenog širenja metastaza. U karcinomu dojke, pluća, prostate, grlića materice i kolona, vaskularni denzitet se pokazao značajnim prognostičkim faktorom i indikatorom tumorske agresivnosti (138). Kod karcinoma jednjaka povećana ekspresija VEGF se javlja u oko 30-60% slučajeva i pokazuje visoku korelaciju sa brzim napredovanjem bolesti i lošijim preživljavanjem ezofagektomisanih bolesnika. Takođe, odgovorna je i za prisustvo regionalnih i udaljenih metastaza. Kao prediktivni faktor odgovora na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju, dosadašnja istraživanja su ukazala na to da povećana ekspresija VEGF može da bude u vezi sa tumorskom rezistencijom na primenjenu terapiju. Šta više, studija Shimada i saradnika (158) pokazala je da nizak nivo VEGF pozitivno koreliše sa kompletnim tumorskim odgovorom na hemio-radioterapiju. Kulke i saradnici, s druge strane, nisu potvrdili ove rezultate (159) Iako uloga angiogeneze u odgovoru na hemio-radioterapiju nije sasvim jasna (160), Nemačka studija je pokazala da odnos VEGF/MIB-1 od 1:6 i manji ukazuje na očekivani dobar odgovor na primenjenu terapiju (124).

U dosadašnjim studijama skvamocelularnog karcinoma jednjaka, ekspresija vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) inverzno koreliše sa petogodišnjim preživljavanjem (161-163) dok uticaj intramuralne kapilarne gustine (CD34) i proliferativne aktivnosti (MIB-1) nije precizno definisan (164). Kako nivo VEGF u serumu ostaje visok čak i kod bolesnika koji su ostvarili kompletan patohistološki odgovor na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju, danas se pažnja usmerava na ciljanu (target) terapiju. U tom smislu postoje početna iskustva u terapiji

karcinoma jednjaka monoklonskim antitelima koja targetiraju VEGF kao što su bevacizumab, sunitinib i sorafenib u okviru trajala faze II (148).

p53 gen je tumor supresor gen koji ima ključnu ulogu u rastu tumora i u čvrstoj je vezi sa njegovim agresivnim ponašanjem. Većina autora navodi da mutacija p53 gena igra značajnu ulogu u kancerogenezi skvamocelularnog karcinoma jednjaka tj. u evoluciji bazalne ćelijske hiperplazije u displaziju i kasnije u neoplaziju. U skorije vreme je pokazano da mutirani p53 ima uticaja na angiogenezu i u korelaciji je sa limfatičkim i udaljenim metastazama (150). 1994. godine, nakon istraživanja na miševima, Lowe i saradnici su otvorili pitanje nivoa ekspresije p53 gena i odgovora na zračenje i hemioterapiju (165), te su se dalje nizala istraživanja. U studiji Kitamura i saradnika, p53 pozitivna ekspresija bila je statistički značajno u korelaciji sa dobrim odgovorom na hemio-radioterapiju, dok Shimada i saradnici ovu korelaciju nisu potvrdili (166, 167). Analiziranjem p53 kao prognostičkog markera, u studiji Ikeda i saradnika (168) negativna ekspresija p53 i Ki-67 proteina bila je povezana sa statistički signifikantno produženim vremenom preživljavanja. Studija Takeno i saradnika, ipak, nije potvrdila ove rezultate (169). U studiji Muro i saradnika, uočena je tendencija boljeg patohistološkog odgovora lokalno uznapređovalog karcinoma jednjaka kod p53 pozitivnih pacijenata u odnosu na p53 negativne, ali razlika nije bila statistički značajna. Takodje, uočeno je i bolje preživljavanje p53 pozitivnih bolesnika (170). S druge strane, u studiji Ribeiro i saradnika, uočeno je statistički značajno niže preživljavanje p53 pozitivnih bolesnika sa karcinomom jednjaka lečenih hemio-radioterapijom (171). Definitivnih zaključaka za sada nema (172).

Regulator ćelijskog ciklusa, p21, može biti koristan marker predikcije odgovora na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju kod karcinoma jednjaka. U studiji Nakashima i saradnika uočeno je da je p21 pozitivnost u odsustvu p53 u korelaciji sa boljim odgovorom na hemio-radioterapiju (173), a Kuwahara daje podatak da je pozitivan p21 kod ranih stadijuma karcinoma jednjaka povezan sa boljim petogodišnjim preživljavanjem (174)

Ekspresija c-erb-B-2 onkoproteina se smatra statistički značajno većom u hemio-radio rezistentnoj grupi bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka. Međutim, ekspresija ovog onkoproteina nije korelirala sa preživljavanjem u Japanskoj studiji Akamatsu i saradnika (157).

Transkripcioni nuklearni faktor (NF) kB, ključni za imuni sistem sisara, smatra se pokazateljem agresivnosti tumora u smislu rezistencije na hemio-radioterapiju i visokog metastatskog potencijala. Aktivirani NF-kB suprimira apoptozu kancerskih ćelija izloženih hemio ili radioterapiji. U studiji Izzo i saradnika uočena je statistička značajnost u odsustvu odgovora na hemio-radioterapiju i visokoj incidenciji metastaza kod bolesnika sa aktiviranim NF-kB (175).

Izražena ekspresija gena timidilat sintaze (TS-1) smatra se glavnim uzrokom rezistencije na 5FU, a uočena je i povezanost sa lošim preživljavanjem kod bolesnika sa karcinomom želuca, kao i inverzna povezanost stepena ekspresije TS-1 sa odgovorom na terapiju (176-178). Podaci za karcinom jednjaka su daleko oskudniji. Jedna studija Kwon i saradnika pokazala je da bolesnici sa TS negativnim tumorom imaju bolji odgovor na hemio-radioterapiju (179), dok je studija Harpole i saradnika ukazala da je visok nivo ekspresije TS nezavisni pokazatelj ranog relapsa bolesti i lošeg preživljavanja (141).

Glutation S transferaza Pi (GSTP1) aktivno vezuje platinu i omogućava njenu eliminaciju iz citosola, ali takođe učestvuje u detoksikaciji od slobodnih radikala što je mehanizam dejstva radioterapije. Povećana ekspresija gena GSTP1 i kros komplementarnog gena 1 (ERCC1) pokazala se indikatorom lošijeg preživljavanja sa skoro statističkom značajnošću u studiji Joshi i saradnika, ali nije uočena statistička značajnost u smislu odgovora na hemio-radioterapiju. Studije koje su ispitivale uticaj ekspresije gena GSTP1 na radiosenzitivnost dale su nekonkluzivne rezultate (180).

Pored navedenih, i mnogi drugi molekularni markeri predmet su brojnih istraživanja, posebno u smislu razumevanja biologije tumora i procene očekivanog odgovora na primenjene terapijske modalitete. Uprkos ekstenzivnim studijama,

nema sigurnih markera predikcije patohistološkog odgovora, a još je manje podataka o markerima koji bi mogli ukazivati na preživljavanje bolesnika lečenih preoperativnom kombinovanom terapijom. Njihova identifikacija i dalja implementacija u kliničku praksu vodila bi mogućnosti izbora najoptimalnijeg tretmana za svakog bolesnika posebno. Definitivni zaključci za sada ne postoje.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Iako danas postoje razne ekstenzivne i sofisticirane tehnike koje nam omogućavaju precizno stadiranje tumora, bolesnici sa karcinomom jednjaka i dalje primaju kompleksnu, ali homogenu terapiju pri čemu se zanemaruje heterogenost samog tumora. Danas je kao standardni tretman bolesnika sa lokalno uznapredovalim karcinomom jednjaka prihvaćena kombinovana hemio-radioterapija sa ili bez hirurgije.

Rezultati brojnih studija ukazali su na bolje preživljavanja bolesnika kod kojih je hemio-radioterapija dovela do kompletnog histološkog tumorskog odgovora kao i onih kod kojih je bila moguća R0 resekcija. Multivarijantne analize pokazale su da je tumorski regresioni gradus verovatno najznačajniji prognostički faktor ukupnog preživljavanja i preživljavanja bez znakova bolesti. Međutim, kompletan tumorski odgovor na hemio-radioterapiju se očekuje kod svega 20-30% bolesnika sa karcinomom jednjaka.

S druge strane, multimodalni tretman karcinoma jednjaka je povezan sa potencijalnim ozbiljnim komplikacijama koji pogađaju sve bolesnike bez obzira na odgovor na terapiju. To znači da izvesna grupa bolesnika prima toksičnu terapiju od koje neće imati značajan benefit, a na račun potencijalnih ozbiljnih komplikacija, dugog vremena i visokih troškova lečenja.

Razumevanje biologije tumora, identifikacija molekularnih markera i otkrivanje njihovog uticaja na ishod lečenja i preživljavanje nas može dovesti do definisanja novih prognostičkih i prediktivnih faktora. Kod karcinoma jednjaka, za sada, nema sigurnih markera predikcije patohistološkog odgovora kao ni prognostičkih markera preživljavanja bolesnika lečenih preoperativnom kombinovanom terapijom. Kako skvamocelularni karcinomi pokazuju visok nivo ekspresije EGFR, njegova prognostička i prediktivna značajnost dokazuje se već godinama. Podaci iz literature su skromni što se tiče karcinoma jednjaka, budući da je ovaj marker u većoj meri ispitivan kod drugih maligniteta, kao što su karcinomi pluća ili glave i vrata.

Identifikacija markera predikcije i prognoze i njihova implementacija u kliničku praksu nam može pomoći u klasifikaciji bolesnika na povoljne i nepovoljne prognostičke grupe u smislu odgovora na terapiju i preživljavanja kao i preciznijoj proceni verovatnoće izlečenja. Ovakav pristup vodio bi boljoj selekciji bolesnika, odnosno izboru najoptimalnijeg tretmana za svakog bolesnika posebno, uvođenju novih terapijskih modaliteta, pa i smanjenju vremena i troškova lečenja.

Imajući u vidu dosadašnja istraživanja, njihove kontroverzne rezultate i odsustvo definitivnih zaključaka, postavili smo sebi za cilj da u prospektivnoj, nerandomizovanoj studiji evaluiramo:

- nivo ekspresije EGF receptora u preterapijskom histološkom uzorku karcinoma jednjaka
- kliničku i histopatološku regresiju (TRG) lokalno uznapredovalog karcinoma jednjaka na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju
- stopu resektabilnosti
- stopu lokalne kontrole i relapsa bolesti
- ukupno preživljavanje (overall survival-OS)
- preživljavanje bez znakova bolesti (disease-free survival-DFS)
- vreme do progresije (time to progression-TTP)
- korelaciju kliničke i histopatološke regresije (TRG) sa preživljavanjem i vremenom do progresije
- korelaciju nivoa ekspresije EGFR sa odgovorom na hemio-radioterapiju i preživljavanjem kao i vremenom do progresije

Toksičnost tretmana će se analizirati posebno.

3. BOLESNICI I METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA

Doktorska disertacija je deo Projekta br. 145059 pod nazivom „OPTIMIZACIJA PROTOKOLA LEČENJA SOLIDNIH TUMORA NA OSNOVU MOLEKULARNIH I RADIOBIOLOŠKIH FAKTORA PREDIKCIJE I PROGNOZE I FRAKTALNE ANALIZE MEĐUSOBNOG UTICAJA PRIMENJENIH TERAPIJSKIH MODALITETA“ odobrenog od strane Ministarstva za nauku Republike Srbije. Kao prospektivna, multicentrična, nerandomizovana studija faze II sprovedena je na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije i Institutu za bolesti digestivnog sistema (I hirurška Univerzitetska klinika) u periodu od 2006. do 2010. godine. Studija obuhvata grupu od 63 bolesnika.

3.1. Kriterijumi za uključivanje bolesnika u studiju

U studiju su uključeni bolesnici stariji od 18 godina sa histopatološki potvrđenim lokoregionalno neresektabilnim skvamocelularnim karcinomom jednjaka (TNM: T3-4, N0-1) sa najmanje jednom jednodimenziono merljivom lezijom dijametra ~20 mm (dijagnostikovano konvencionalnim CT-om) ili ~10 mm (dijagnostikovano spiralnim CT-om). Limfni nodusi su smatrani patološkim ukoliko je njihov dijametar 15 mm u najkraćoj osovini kada se procenjuje CT-om.

Bolesnici su morali biti dobrog opšteg stanja (ECOG status 0-2) (181), imati zadovoljavajuću funkciju kostne srži (Leukociti $>4 \times 10^9/L$, Trombociti $>100 \times 10^9/L$), jetre (serumski bilirubin $<1,5 \times N$) i bubrega (koncentracija kreatinina u serumu $<1,5 \times N$).

Takođe, svi bolesnici su upoznati sa protokolom i dali su pisani informisani pristanak za učešće u studiji.

Tabela 7. ECOG skala

0	Potpuno aktivan, bez znakova bolesti
1	Minimalni znaci bolesti, sposoban za lakši ili statičan posao npr. kućni ili kancelarijski posao
2	Sposoban da se brine o sebi ali nesposoban za posao, van kreveta više od 50% vremena
3	Skoro samodovoljan, u krevetu ili stolici više od 50% vremena
4	Nesposoban za brigu o sebi. Vezan za krevet. Nepokretan
5	Smrt

Iz studije su isključeni bolesnici koji su prethodno primali hemio ili radioterapiju, lasersku ili fotodinamsku terapiju, bolesnici koji su imali plasiran stent, traheobronhijalnu fistulu, oni koji su bili na terapiji drugim antitumorskim agensima, oni sa sekundarnim malignitetom, preosetljivošću na fluoropirimidine i oni sa nekontrolisanim teškim fizičkim ili mentalnim poremećajima (npr. nestabilna kardiološka oboljenja i pored terapije, infarkt miokarda u poslednjih 6 meseci, aktivne i nekontrolisane infekcije ili sepse, nestabilne bolesti respiratornih organa, aktivna diseminovana intravaskularna koagulacija, neurološke i mentalne bolesti uključujući demenciju i bolesnike koji zloupotrebljavaju alkohol).

3.2. Dijagnostičke procedure pre otpočinjanja terapije

U cilju procene proširenosti bolesti svim bolesnicima je rađen kompletan klinički pregled, ezofagografija sa barijumom, kompjuterizovana tomografija (CT) ili magnetna rezonanca (MRI) grudnog koša i gornjeg abdomena, ezofagoskopija sa biopsijom, kompletna krvna slika i serumska biohemija sa posebnim osvrtom na jetrine i bubrežne funkcije. Ostale pretrage (endoskopski ultrazvuk, pozitron emisiona tomografija i drugo) su sprovedene sporadično i prema mišljenju terapeuta.

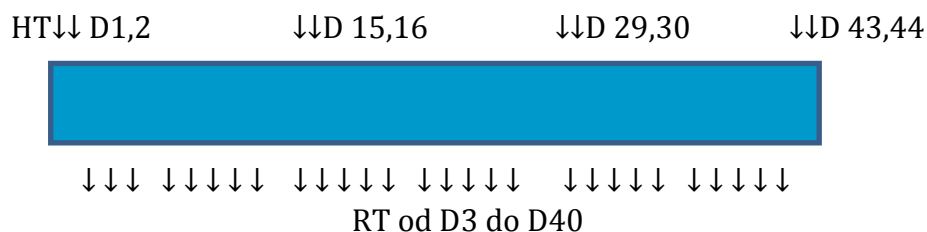
Svi bolesnici su stadirani na osnovu TNM klasifikacije (24).

Definitivna dijagnoza je postavljena patohistološkom verifikacijom nakon biopsije tumora, pri čemu su rutinski određivani histološki tip tumora i stepen diferentovanosti (gradus) na osnovu WHO klasifikacije (24).

3.3. Plan preoperativne hemio-radioterapije

Svi bolesnici su obrađeni na osnovu NCCN protokola (182) za dijagnostiku i terapiju karcinoma jednjaka, a lečenje je predložio tim konzilijuma za maligne bolesti digestivnog trakta koji čine hirur, medikalni onkolog, radijacioni onkolog, radiolog i patolog.

Neoadjuvantna hemio-radioterapija podrazumeva zračnu terapiju tumorskim dozama ranga 45-50,4 Gy u 24-28 frakcija uz konkomitantnu hemioterapiju Cisplatinom i infuzijom visokih doza 5-fluorouracila/leukovorina (5FU/LV)



HT-hemioterapija, RT-radioterapija, D-dan

Slika 23. Šema hemio-radioterapijskog režima

3.3.1. Hemioterapija

Hemioterapija je ordinirana u ciklusima na svakih 14 dana. Maksimalno je aplikovano 4 ciklusa. Svaki ciklus hemioterapije je ordiniran u dva dana: prvog, petnaestog, dvadeset devetog i četrdeset trećeg dana tretmana ordinirana je Cisplatina u dozi od 50mg/m² telesne površine uz adekvatnu hidraciju i diurezu. Leukovorin (LV) u dozi od 20mg/m² u vidu dvočasovne infuzije, 5-fluorouracil (5FU) u dozi od 400mg/m² iv kao bolus i 5FU u dozi od 600mg/m² u vidu 22 časovne infuzije ordinirani su 1, 2, 15, 16, 29, 30, 43 i 44 dana tretmana.

3.3.2. Radioterapija

Radioterapija je počinjala trećeg dana od dana otpočinjanja prvog ciklusa hemioterapije. Aplikovana je tumorska doza ranga 45-50,4Gy u 24-28 frakcija standardnim režimom frakcioniranja (1,8Gy po frakciji) visokoenergetskim fotonima (energija preko 8MV) na linearnom akceleratoru iz 2, 3 ili 4 polja. Radioterapija je planirana na osnovu barijumskih radiografija jednjaka i CT preseka toraksa, a prema preporukama ICRU 50/62.

Konvencionalna radioterapija iz dva suprotna paralelna polja (AP/PA) tehnikom IZOCENTRA, planirana je na Simulatoru, na osnovu barijumske

ezofagografije i CT pregleda grudnog koša. Posteroanteriorno (PA), odnosno anteroposteriorno (AP) zračno polje je određivano na sledeći način: gornja i donja granica zračnog polja su po 5 cm udaljenje od gornje i donje ivice tumora vizualizovanog barijumskom ezofagografijom i referentnim CT presecima, čime se pokriva potencijalno submukozno širenje. Lateralna margina se određuje na osnovu CT-a i ezofagograma i obično se postavlja 2,5-3 cm od zida jednjaka čime se obezbeđuje pokrivenost celog zida jednjaka i regionalnih limfnih žlezda. Pacijenti su pozicionirani u položaj supinacije, a reprodukcija polja je obezbeđena tetovažnim referentnim tačkama na koži. Ovom tehnikom aplikovana je tumorska doza od 45Gy u 25 frakcija.

Konformalna radioterapija je zasnovana na CT Simulatoru kojim se pravi serija skenerskih preseka regiona od interesa (grudni koš i gornji abdomen). Na dobijenim presecima kompjuterskim putem se obeležavaju volumen tumora sa okolnim marginama, kao i organi izloženi riziku od zračenja (srce, pluća i kičmena moždina) prema ICRU 50/62 :

1. GTV (*Gross Tumor Volume*) predstavlja uočljivu makroskopsku dimenziju tumora
2. CTV (*Clinical Target Volume*) označava GTV + mikroskopsko širenje tumora. Za karcinom jednjaka dodaje se margina od 2-2,5 cm lateralno i anteriorno, dok posteriorno može biti i manja zbog blizine kičmenog stuba. Superiorno i inferiorno dodaje se margina od 5 cm.
3. PTV (*Planing Target Volume*) uključuje CTV + sigurnosnu marginu koja obuhvata potencijalnu grešku prilikom pozicioniranja pacijenta i fizioloških pokreta organa. Za tumore lokalizovane u grudnom košu ova margina iznosi 1cm.

Optimalni aranžman polja je određivan individualno za svakog bolesnika u cilju homogenog ozračivanja željenog volumena (PTV) uz maksimalnu poštedu okolnih zdravih organa. Najčešće je planirano ozračivanje iz tri ili četiri polja, mada su bili mogući i drugi aranžmani.

Analiziranjem *Dose Volume Histogram-a (DVH)* vršena je evaluacija plana, odnosno procenjivana je 95% doza aplikovana na PTV i doza koju primaju zdravi organi.

Ukoliko je plan zadovoljavajući pristupalo se verifikaciji plana na Simulatoru pri čemu su poređena zadata polja (digitalno rekonstruisana radiografija-DRR) i projekcije polja na pacijentu u momentu snimanja.

3D konformalnom radioterapijom moguća je eskalacija doze, te je ovom tehnikom aplikovana tumorska doza od 50,4Gy u 28 frakcija.

3.4. Evaluacija toksičnosti tretmana

Za gradiranje toksičnosti terapije korišćen je NCI-CTC kriterijum (87).

Tabela 8. NCI-CTC hematološka toksičnost terapije

Gradus	0	1	2	3	4
Leukopenija	Normalan broj leukocita	< 3.0 x10 ⁹ /L	≥2.0- <3.0 x10 ⁹ /L	≥1.0- <2.0 x10 ⁹ /L	< 1.0 x10 ⁹ /L
Neutropenija	Normalan broj granulocita	≥1.5- <2.0 x10 ⁹ /L	≥1.0- <1.5 x10 ⁹ /L	≥0.5- <1.0 x10 ⁹ /L	< 0.5 x10 ⁹ /L
Anemija	Normalan hemoglobin	< 10.0 gr/dl	8.0- <10.0 gr/dl	6.5 -<8.0 gr/dl	< 6.5 gr/dl
Trombopenija	Normalan broj trombocita	< 75.0 x10 ⁹ /L	≥50.0- <75.0 x10 ⁹ /L	≥10.0- <50.0 x10 ⁹ /L	< 10.0 x10 ⁹ /L
Febrilna neutropenija (Neutrofil< 1.0 x10⁹/L, Temperatura≥38.5C)	Bez febrilnosti			Prisutna febrilna neutropenija	Sepsa, šok

Tabela. 9. NCI-CTC nehematološka toksičnost terapije

Gradus	0	1	2	3	4
Dermatitis	Bez komplikacija	Laki eritem ili suva deskvamacija	Umereni eritem ili početna vlažna deskvamacija, lak edem kože	Konfluentna vlažna deskvamacija više od 1,5 cm kože, izraženiji edem	Ulceracije ili nekroza kože
Bol	Bez komplikacija	Blagi bol koji ne utiče na svakodnevnu aktivnost	Bol ili algezija koja utiče na kvalitet života ali ne ometa normalno funkcionisanje	Jak bol koji ometa normalno obavljanje aktivnosti	Bol koji potpuno onesposobljava bolesnika
Disfagija	Bez komplikacija	Blaga disfagija, ali može normalno da guta	Može da guta tečnu hranu	Potrebna parenteralna ishrana	Kompletna opstrukcija, ne može da guta ni pljuvačku
Mučnina	Bez komplikacija	Može da jede	Smanjen oralni unos hrane	Onemogućen oralni unos hrane, potrebna parenteralna ishrana	
Povraćanje	Bez komplikacija	Jedna epizoda povraćanja na 24 h	2-5 epizoda povraćanja/24 h	≥6 epizoda povraćanja/24 h, potrebna iv infuzija	Potrebna parenteralna ishrana, hemodinamski kolaps ili elektrolitni disbalans
Stomatitis	Bez komplikacija	Bezbolne afte, eritem, lak bol bez afti	Bolan eritem, edem ili afte, ali moguća ishrana	Bolan eritem, edem ili afte koji zahtevaju parenteralnu ishranu	Teške ulceracije koje zahtevaju parenteralnu ili enteralnu ishranu ili intubaciju
Dijareja	Bez komplikacija	do 4 stolice dnevno	4-6 stolica dnevno, noćne stolice	Više od 7 stolica i/ili inkontinencija ili parenteralna supstitucija zbog dehidracije	Hemodinamski kolaps
Kardiotoksičnost	Bez komplikacija	Asimptomatski, ne zahteva tretman	Simptomatski ali ne zahteva terapiju	Simptomatski, zahteva terapiju	Životno ugrožavajući (npr. apsolutna aritmija, hipotenzija, sinkopa, šok)
Tromboza	Bez komplikacija		Duboka venska tromboza koja ne zahteva antikoagulantnu terapiju	Duboka venska tromboza koja zahteva antikoagulantnu terapiju	Embolije, uključujući i plućnu emboliju
Krvarenje	Bez komplikacija	Blago krvarenje, ne zahteva transfuziju		Potrebna transfuzija	Obilno krvarenje, potrebna hemostaza

Svake nedelje je kontrolisana kompletna krvna slika i biohemija uključujući parametre jetrine i bubrežne funkcije, i procenjivani su klinički simptomi i toksičnost. U slučaju akutne toksičnosti gradusa 3 ili 4 terapija je privremeno prekidana do oporavka (gradusa 0-2), a u slučaju febrilne neutropenije, krvarenja i sl. hemio-radioterapija se definitivno prekidala.

3.5. Evaluacija odgovora na terapiju

Klinički, terapijski odgovor je procenjivan 5-6 nedelja po završetku hemio-radioterapije prema RECIST kriterijumu (183) istim pretragama kao i pre otpočinjanja tretmana.

Tabela 10. Terapijski odgovor prema RECIST kriterijumu

Kompletan odgovor (Complete response-CR)	Odsustvo bolesti (tumora, limfnih žlezda)
Parcijalni odgovor (Partial response-PR)	Smanjenje tumora za najmanje 30%
Stabilizacija bolesti (Stabile disease-SD)	Smanjenje tumora za manje od 30%
Progresija bolesti (Progressive disease-PD)	Povećanje tumora za najmanje 20% ili pojava metastaza

3.6. Prognošički i prediktivni faktori i molekularni markeri

Imunohistohemijskom analizom preseka parafinskih blokova tumora koji su preoperativno endoskopski uzorkovani i obrađeni za standardnu patohistološku analizu utvrđuje se stepen ekspresije molekularnih markera predikcije i prognoze. U okviru projekta predviđeno je da analizom budu obuhvaćeni sledeći molekularni markeri: receptor za epidermalni faktor rasta (EGFR), vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), proliferativna aktivnost (MIB-1), kapilarna gustina (CD34), regulatori ćelijskog ciklusa i apoptoze (p21, p53), Ki-67, nuklearni faktor-kB (NF-kB), timidilat sintaza (TS-1), Glutation S transferaza Pi (GSTP1).

U tezi će se posebno obrađivati receptor za epidermalni faktor rasta te će se nakon utvrđivanja stepena ekspresije ovog markera analizirati njegova korelacija sa efektima lečenja i preživljavanjem.

Imunohistohemijska ispitivanja su izvršena na presecima parafinskih kalupa debljine 4 mikrona, prethodno fiksiranih uzoraka tumora u 10% rastvoru puferisanog neutralnog formalina. Na tabeli 11. dat je pregled korišćenih antitela i primenjenih imunohistohemijskih metoda bojenja, u cilju dokazivanja ekspresije sledećih antigena/ markera: EGFR, VEGF, TS, p21, p53 i Ki-67 proteina.

U toku imunohistohemijskog ispitivanja primenjena je ekstremno senzitivna i specifična imunohistohemijska metoda –LSAB+/HRP.

Tabela 11. Pregled primarnih antiseruma i vizualizacionih imunohistohemijskih metoda

Primarni antiserum i klon (mo-monoklonski, po-poliklonski)	Imunogen	Proizvođač/ kataloški broj	Razblaženje antitela/ demaskiranje antigena	IHH metoda
EGFR (po kozji anti-humani EGFR)	c-terminus proteina EGFR humanog porekla	Santa Cruz Biotechnology, USA, SC-03	1:200 / MTP, proteolitička digestija, proteinaza K 37°C, 21 min.	LSAB+/HRP
VEGF (mo mišiji anti-humani) (G 153-694)	rekombinovani protein VEGF-189 cele dužine	BD Pharmingen, USA, 555036	1:100 / MTP, citratni pufer pH6, 21 min.	LSAB+/HRP
TS (mo mišiji anti-timidilat sintaza) (106/4H4B1)	rekombinantna humana timidilat sintaza	Zymed Laboratories Int, USA, 18-0405	1:100 / MTP, citratni pufer pH6, 21 min.	LSAB+/HRP
Ki-67 (mo mišiji anti-humani) (Ki-S5)	jedra izolovana iz ćelijske linije L428 Hodgkinovog limfoma.	DAKO A/S, Denmark, M7187	1:25 / MTP, citratni pufer pH6, 21 min.	LSAB+/HRP
p53 (mo mišiji anti-humani) (DO-7)	rekombinantni humani divlji tip proteina p53 izolovan iz <i>E. coli</i>	DAKO A/S, Denmark, M7001	1:50-1:100 / MTP, citratni pufer pH6, 21 min.	LSAB+/HRP
p21^{RAS} (mo mišiji anti-humani) (NCC-RAS-001)	rekombinantni c-H-ras protein p21	DAKO A/S, Denmark, M0637	1:50 / MTP, citratni pufer pH6, 21 min.	LSAB+

IHH – imunohistohemijska; LSAB+/HRP (Labelled StreptAvidin-Biotin, Horse Radish Peroxidase) – peroksidazom obeležen streptavidin-biotin kit

3.6.1. Princip metode LSAB⁺/HRP

Dako LSAB⁺ kit, u kome je streptavidin obeležen peroksidazom, bazira se na obeleženoj streptavidin biotin (SAB) metodi, ali koristi visoko "rafiniranu" avidin-biotin kompleksnu trostepenu tehniku (ABC) u kojoj biotinizirano sekundarno antitelo reaguje sa nekoliko streptavidinskih molekula konjugovanih peroksidazom. Radi se o ekstremno osetljivoj i prilagodljivoj imunohistohemijskoj metodi, koja je u poređenju sa ABC metodom senzitivnija čak 8 puta. S obzirom da se u kitu nalazi pojačan sistem stvaranja signala za detekciju antigena prisutnih u niskim koncentracijama, tj. sistem koji omogućava povećanje intenziteta bojenja kao kompenzaciju za nizak titar primarnog antitela, optimalno razblaženje primarnog antitela je do 20 puta veće nego u klasičnoj peroksidaza-antiperoksidaza (PAP) tehnici, tj. nekoliko puta veće nego u klasičnoj ABC ili SAB tehnici.

U avidin/streptavidin-biotin metodi koristi se visok afinitet avidina ili streptavidina prema biotinu (disocijaciona konstanta 10^{-19} M). Na avidinu se nalaze 4 vezujuća mesta za biotin. Međutim, zbog molekularne orijentacije biotin-vezujućih mesta, stvarno se vezuje manje od 4 molekula biotina. Biotinizacija je diskretan proces u toku koga se biotin kovalentno vezuje za antitelo. Otvorena mesta na avidinu iz avidin-biotin kompleksa ili avidina obeleženog enzimom, vezuju se za biotin na vezujućem antitelu. Biotinizirano antitelo se ne dodaje u višku pošto za vezivanje nisu potrebna slobodna Fab mesta. Peroksidaza rena (engl. *Horst Radish Peroxidase* – HRP) je enzim za obeležavanje u ovim procedurama. Jak afinitet avidina za biotin i diskretna biotinizacija čine avidin-biotin metodu senzitivnijom od svih ranije opisanih direktnih ili indirektnih imunohistohemijskih postupaka.

Nakon demaskiranja antigena i blokiranja aktivnosti endogene peroksidaze, tkivni preseci se inkubiraju sa odgovarajućim primarnim antitelom (mišjim, kunićevim ili kozjim), nakon čega sledi inkubacija sa biotiniziranim vezujućim antitelom i streptavidinom obeleženim peroksidazom. Postupak se završava

inkubacijom preseka u mešavini supstrat-hromogena (najčešće H₂O₂ i 3,3'-diaminobenzedina/DAB, ili 3-amino-9-etil-karbazola/AEC).

3.6.2. Procedura LSAB+/HRP

Sama procedura imunohistohemijskog bojenja započinje deparafinizacijom preparata nakon koje sledi postupak demaskiranja antigena preporučen za tkivne preseke fiksirane u formalinu i ukalupljenim u parafin. Demaskiranje se vrši u mikrotalasnoj pećnici po preporuci firme DAKO, izlaganjem tkivnih preseka potopljenih u rastvor za demaskiranje mikrotalasnim zracima (pri jačini od 800 W) u trajanju od 7-21 min. S obzirom da fiksacija u formaldehidu sadrži fiksative koji uzrokuju unakrsno vezivanje proteina, a kalupljenje u parafinu oštećuje konformaciju proteina, postupkom demaskiranja antigena otklonjeni su ovi poremećaji putem kidanja veza u unakrsno-vezanim proteinima, restoracijom konformacije epitopa / antigena i uklanjanjem Ca⁺⁺ jona uz pomoć citrata. Za demaskiranje antigena korišćen je 0,01 M citratni pufer pH 6,0 (*Target Retrieval Solution*, pH 6,0, *ready-to-use*, Code No. S 17000, DAKO-Denmark).

Nakon deparafinizacije i demaskiranja antigena, izvršeno je blokiranje endogene peroksidaze 3% H₂O₂ u vodi, u toku 5 minuta na sobnoj temperaturi. Inkubacija sa primarnim antitelom trajala je 60 minuta i izvodila se na sobnoj temperaturi. Potom je vršena inkubacija sa biotiniziranim anti-zečijim, anti-mišijim i anti-kozijim imuno-globulinima, 30 minuta na sobnoj temperaturi. U sledećoj etapi vršena je inkubacija preseka sa streptavidinskim konjugatom na peroksidazu rena, 30 minuta na sobnoj temperaturi. Konačno su preseki inkubirani u rastvoru mešavine supstrat-hromogen (H₂O₂ i 3-amino-9-etil-karbazol u N,N-dimetilformamidu; AEC+ Substrate-Chromogen kit, Cat. No. K 3469, DAKO-Denmark), 5 minuta na sobnoj temperaturi. Kao opšti rastvarač antiseruma i sredstvo za ispiranje između različitih koraka u toku imunohistohemijske procedure bojenja korišćen je 0,1M fosfatni pufer pH 7,4. Čelijska jedra su bojena Mayer-ovim hematoksilinom.

3.6.3. Kontrola kvaliteta i specifičnosti imunohistohemijske reakcije

Imunohistohemijska bojenja izvršena su uz kontrolu kvaliteta i specifičnosti bojenja primenom pozitivnih i negativnih kontrolnih postupaka, prema propozicijama UK NEQAS (Engl. *UK National External Quality Assessment for Immunocytochemistry*).

Tokom procesa bojenja preparata paralelno su bojani i “pozitivni” i “negativni” kontrolni uzorci za potvrdu specifičnosti i kvaliteta imunohistohemijske metode. Kao pozitivna kontrola u toku imunohistohemijskog bojenja služili su uzorci tkiva za koja je ranije sigurno utvrđeno da sadrže antigene koje je moguće vizuelizovati primenjenom metodom. Ovi preseki su tretirani na isti način kao i ispitivani tkivni uzorci. Negativnu kontrolu (kontrola reagenasa) predstavljali su tkivni uzorci na koje je umesto primarnih antitela aplikovan neimuni serum.

3.6.4. Semikvantitativna procena imunoekspresije ispitivanih markera

Semikvantitativna procena ekspresije svih ispitivanih markera vršena je sa preparata bojanih imunohistohemijskim metodama, na osnovu intenziteta imunohistohemijskog bojenja, uzimajući u obzir procenat obojenih tumorskih ćelija, po sistemu procene datom u tabeli 12, a kao model je poslužio sistem bodovanja imunoreaktivnosti EGFR predložen od strane Goldstein-a (184).

Tabela 12. Procena imunoreaktivnosti

<i>EGFR (citoplazmatska i/ili membranska reaktivnost)</i>	
0	Nema imunoreaktivnosti
+	Slaba ili fokalna imunoreaktivnost u < 10 % tumorskih ćelija
1	Slaba ili fokalna imunoreaktivnost u 10-50 % tumorskih ćelija
2	Jasna imunoreaktivnost u 10-50 % tumorskih ćelija
3	Jasna imunoreaktivnost u ≥ 50 % tumorskih ćelija

3.7. Hirurgija i histopatološka procena resektata

Pre hirurške resekcije vršena je procena operabilnosti i podobnosti pacijenata za ovu proceduru. Hirurški pristup je određivan na osnovu lokalizacije tumora i procene samog operatora, a podrazumevao je resekciju jednjaka i proksimalnog dela želuca odvojenim transtorakalnim i abdominalnim pristupom. Resekcija je uključivala i paraezofagealne, parakardijalne, leve gastrične i celijačne limfne žlezde. Resekovani jednjak je uglavnom zamenjen želudačnim transplantatom sa cervikalnom ezofagogastričnom anastomozom (sec. Ivor-Lewis).

Bolesnici koji nisu podobni za operaciju nakon hemio-radioterapije nastavljali su lečenje hemioterapijom i/ili simptomatskom i suportivnom terapijom.

Histopatološka eksploracija resekovanog uzorka podrazumeva ypTNM klasifikaciju, rezidualni status i regresioni status (TRG) na osnovu Mandard kriterijuma (128):

Gradus 1: odsustvo histološki uočljivog rezidualnog karcinoma, fibroza koja se prostire kroz različite slojeve zida jednjaka sa ili bez granuloma.

Gradus 2: prisustvo retkih rezidualnih kancerskih ćelija rasutih u fibrozi

Gradus 3: veliki broj rezidualnih kancerskih ćelija, ali sa predominacijom fibroze

Gradus 4: rezidualne kancerske ćelije dominiraju nad fibrozom

Gradus 5: odsustvo regresionih promena

3.8. Praćenje bolesnika

Redovne kontrole su obavljane svaka tri meseca u toku prve dve godine, a potom na 6 meseci. Kontrole su obuhvatale fizikalni pregled, procenu tumora, kasne i hronične komplikacije tretmana.

Procena tumora je vršena barijumskom ezofagografijom na tri meseca, dok su endoskopski pregled i CT toraksa i gornjeg abdomena rađeni dva puta godišnje ili prema proceni terapeuta.

U srednjem vremenu praćenja od 9 meseci (rang 2-31 mesec) beleženi su pojava lokalnog i udaljenog relapsa bolesti i vreme do progresije (time to progression-TTP).

Vreme do progresije označeno je kao vreme od početka lečenja do progresije bolesti (pojave lokalnog ili udaljenog relapsa).

Lokalni relaps (recidiv/lokalna progresija) označava ponovnu pojavu tumorske mase ili njeno uvećanje za više od 20%, verifikovanu svim navedenim dijagnostičkim modalitetima.

Udaljeni relaps bolesti označava pojavu metastaza u drugim organima.

Kod bolesnika koji su kompletno odgovorili na hemio-radioterapiju (CR) ili su radikalno operisani, vreme od početka terapije do pojave prvog relapsa označava se kao preživljavanje bez znakova bolesti (disease free survival-DFS)

Za umrle bolesnike evidentiran je datum smrti na osnovu podataka iz istorija bolesti Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije, I hirurške Univerzitetske klinike, registara regionalnih onkoloških dispanzera i Matičnih službi. Ovaj podatak je beležen u cilju analize ukupnog preživljavanja (overall survival-OS). Ukupno preživljavanje označeno je kao vreme od početka lečenja do egzitusa.

3.9. Statistička analiza

U studiju je uključeno 63 bolesnika. Osnovne karakteristike bolesnika su sumirane. Za kategorijske varijable formirane su tabele raspodela učestalosti, a za kontinuirane varijable korišćene su deskriptivne statističke metode. Prikazan je ukupan procenat kliničkih i histopatoloških kompletnih remisija. Uticaj nivoa ekspresije molekularnog markera (EGFR) na ukupni procenat kompletnih remisija i response rate analiziran je Hi-kvadrat ili Fisherovim testom, a uticaj nivoa ekspresije ovog markera i tumorske regresije na preživljavanje bez znakova bolesti, vreme do progresije i ukupno preživljavanje Log-Rank testom. Za analizu

preživljavanja bez znakova bolesti, vremena do progresije i ukupnog preživljavanja korišćen je Kaplan-Meier metod. U statističkoj analizi korišćen je paket R (*version 2.8.1 (2008-12-22); Copyright (C) 2008 The R Foundation for Statistical Computing; ISBN 3-900051-07-0*). Za grafički prikaz podataka korišćen je Microsoft Office Excel 2007.

3.10. Etički komitet

Svi bolesnici su pre uključenja u studiju potpisali informisani pristanak kojim su obavješteni o svojoj bolesti, predviđenom lečenju i mogućim komplikacijama. U svakom trenutku bolesnik je mogao da odustane od učešća u studiji što nije imalo nikakve posledice na dalji tok lečenja.

Etički komitet Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu na sednici održanoj 22.03.2010. godine doneo je odluku br. 440/III-10 da je doktorska disertacija pod nazivom „PROGNOSTIČKI ZNAČAJ TUMORSKE REGRESIJE I RECEPTORA ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA U BOLESNIKA SA UZNAPREDOVALIM SKVAMOCELULARNIM KARCINOMOM JEDNJAKA LEČENIH NEOADJUVANTNOM HEMIO-RADIOTERAPIJOM“ u skladu sa načelima Helsinške deklaracije i načelima Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

4. REZULTATI

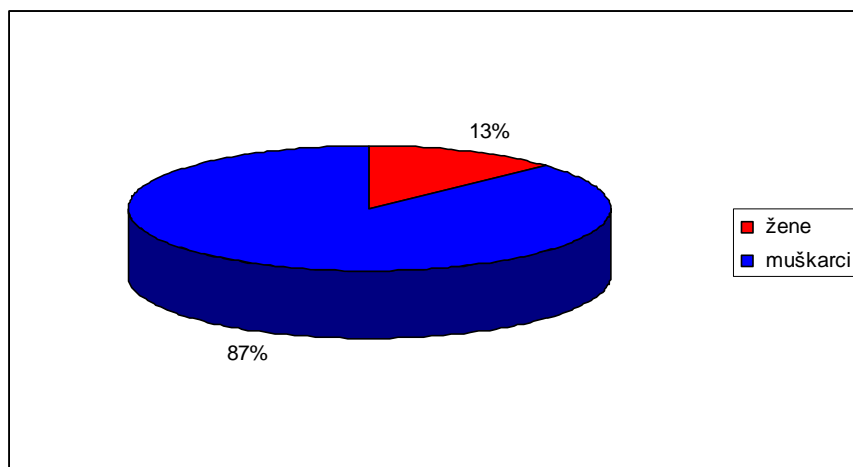
4.1. PRIKAZ BOLESNIKA

U okviru prospektivne, multicentrične, nerandomizovane studije faze II koja je sprovedena na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije i Institutu za bolesti digestivnog sistema (I hirurška Univerzitetska klinika) u periodu od 2006. do 2010. godine ispitivanjem je obuhvaćeno 63 bolesnika sa histološki dokazanim lokoregionalno neresektabilnim (T3-4, N0-1) skvamocelularnim karcinomom jednjaka. Svim bolesnicima ordinirana je konkomitantna hemio-radioterapija. Na tabeli 1. dat je prikaz bolesnika naše grupe.

Tabela 1. Prikaz bolesnika (N=63)

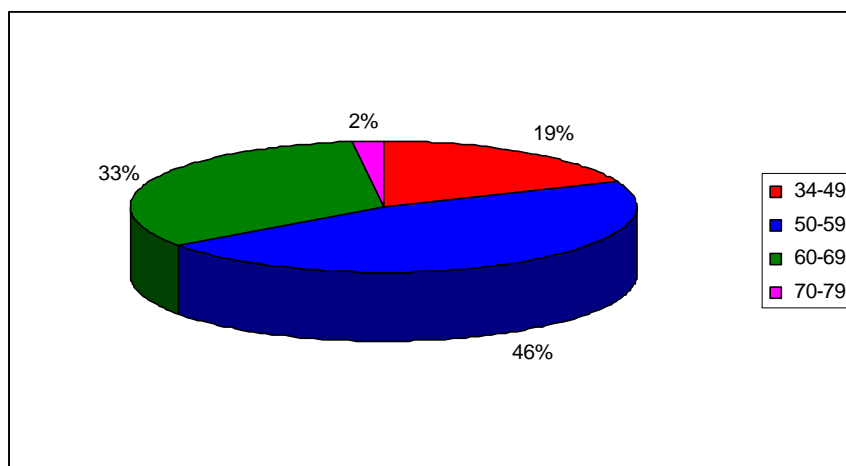
Starost (godine) Srednja starost 56 Rang 34-74	34-49	12	19 %
	50-59	29	46 %
	60-69	21	33 %
	70-79	1	2 %
pol	žene	8	13 %
	muškarci	55	87 %
Performance status (Karnofsky index %)	70	2	3 %
	80	17	27 %
	90	32	51 %
	100	12	19 %
Stepen disfagije	Bez disfagije	0	0 %
	Čvrsta hrana, bol pri gutanju	38	60 %
	Kašasta hrana	15	24 %
	Tečna hrana	6	10 %
	Afagija	4	6 %
Gubitak u telesnoj težini	Bez gubitka	8	13 %
	1-5 kg	16	25 %
	5-10 kg	22	35 %
	>10 kg	17	27 %
Ćelijski tip Skvamocelularni karcinom	Gradus 1	25	40 %
	Gradus 2	24	38 %
	Gradus 3	6	9 %
	nepoznat gradus	8	13 %
Klinički stadijum (CS)	T3 N0 M0 CS II	13	21 %
	T3 N1 M0 CS III	17	27 %
	T4 N0 M0 CS III	9	14 %
	T4 N1 M0 CS III	19	30 %
	T4 N1 M1 CS IV	5	8 %
Lokalizacija	Cervikalni jednjak	4	6 %
	Gornja trećina torakalnog jednjaka	28	45 %
	Srednja trećina torakalnog jednjaka	26	41 %
	Donja trećina torakalnog jednjaka	5	8 %

U studiju je uključeno 8 žena (13%) i 55 muškaraca (87%)(dijagram 1.)



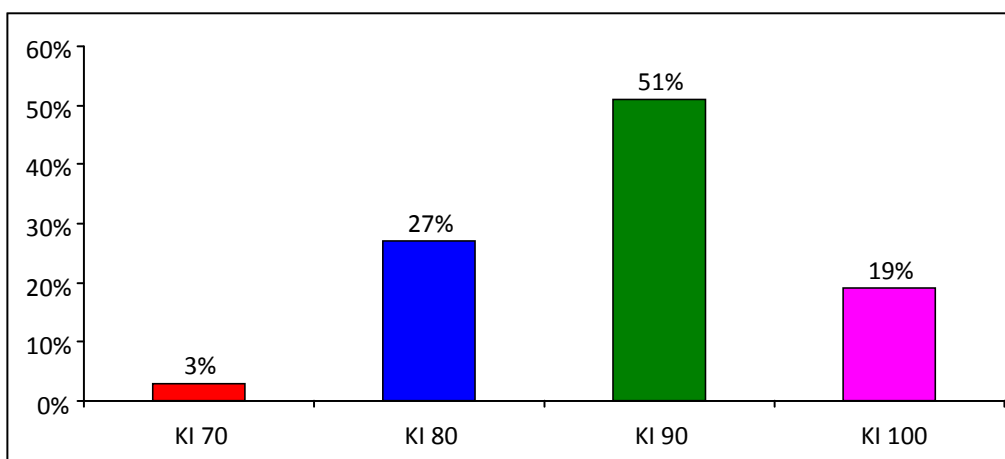
Dijagram 1. Prikaz pacijenata prema polu

Prosečna životna dob bolesnika naše grupe iznosila je 56 godina, pri čemu je najmlađi bolesnik imao 34, a najstariji 74 godine. Najveći broj bolesnika (65%) pripadao je populaciji ispod 60 godina starosti. Bolesnika ispod 50 godina starosti bilo je svega 12 (19%), a samo jedan bolesnik je bio starosti preko 70 godina (dijagram 2).



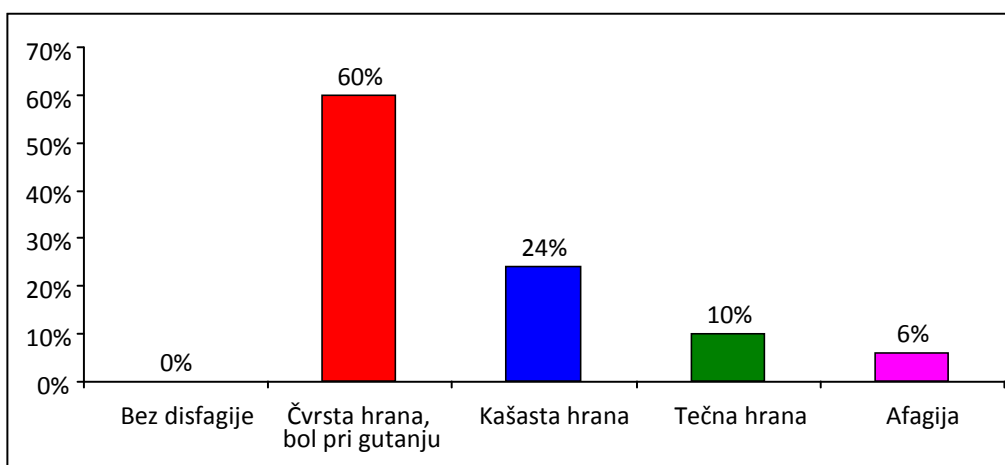
Dijagram 2. Prikaz pacijenata prema životnoj dobi
Prosečna starost: 56 godina (rang 34-74)

Opšte stanje bolesnika procenjivali smo na osnovu Karnofsky indeksa (KI) koji je iznosio između 70% i 100%. I pored uznapredovale bolesti, većina bolesnika (87%) je bila dobrog opšteg stanja (KI 80%-100%) , dok je 2 bolesnika (3%) imalo Karnofsky indeks 70% (dijagram 3).



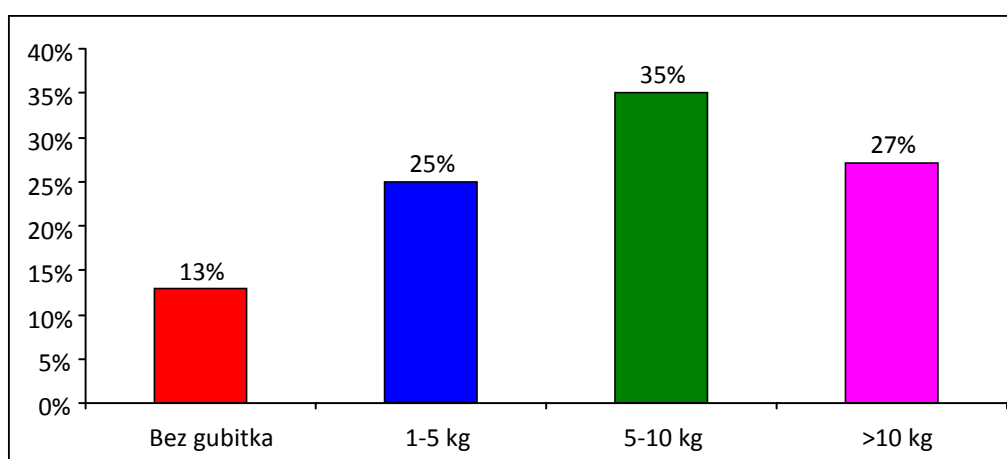
Dijagram 3. Opšte stanje pacijenata (Karnofsky indeks-KI%)

Svi bolesnici su imali ispoljenu disfagiju kao dominantan klinički simptom. Disfagija gradusa 1 registrovana je kod 38 bolesnika (60%). Meku hranu (disfagija gradusa 2) moglo je da guta 15 bolesnika (24%), a samo tečnost (disfagija gradusa 3) 6 bolesnika (10%). Skoro potpuna afagija zabeležena je kod 4 bolesnika (6%) (dijagram 4).



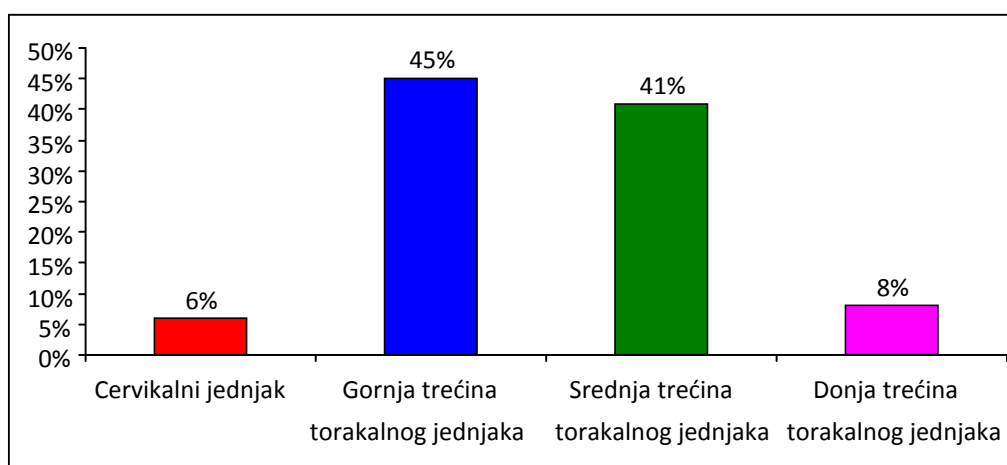
Dijagram 4. Disfagija

U zavisnosti od težine ispoljene disfagije, kao i dužine trajanja bolesti, bolesnici sa uznapredovalim karcinomom jednjaka gube na telesnoj težini što narušava njihovo opšte stanje i negativno utiče na prognozu bolesti. U našoj grupi bez gubitka na telesnoj težini bilo je 8 bolesnika (13%). Gubitak u težini do 5 kilograma registrovan je kod 16 bolesnika (25%), od 5-10 kg kod 22 (35%), a preko 10 kg kod 17 bolesnika (27%) (dijagram 5).



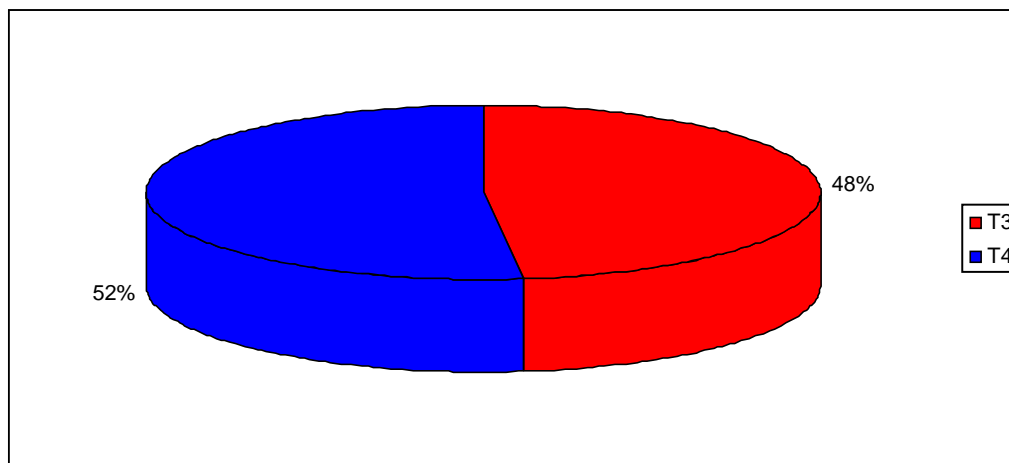
Dijagram 5. Prikaz pacijenata prema gubitku na telesnoj težini

U najvećem broju slučajeva (45%) tumor je bio lokalizovan u gornjoj trećini torakalnog jednjaka. U srednjoj torakalnoj trećini jednjaka tumor je verifikovan kod 26 bolesnika (41%), dok su cervikalna i distalna torakalna lokalizacija bile znatno ređe (6% i 8% respektivno) (dijagram 6).



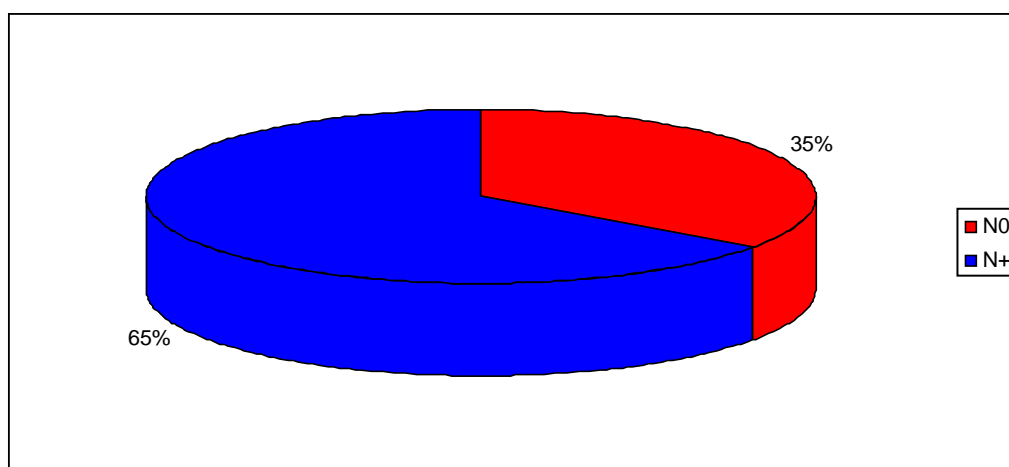
Dijagram 6. Prikaz pacijenata prema lokalizaciji tumora

U određivanju stadijuma bolesti koristi se TNM sistem klasifikacije. Na osnovu ove klasifikacije svi naši bolesnici imali su karcinom jednjaka u T3 ili T4 stadijumu. T3 karcinom jednjaka zabeležen je kod 30 (48%), a T4 kod 33 naša bolesnika (52%) (dijagram 7).



Dijagram 7. Prikaz pacijenata prema T stadijumu bolesti

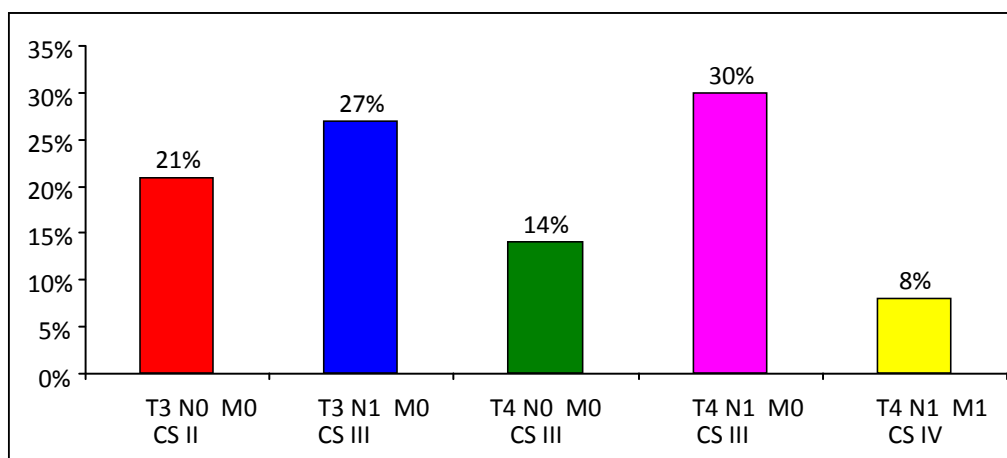
Broj bolesnika koji su imali prisutnu regionalnu limfadenopatiju u momentu postavljanja dijagnoze iznosio je 41 (65%), dok kod 22 bolesnika (35%) limfadenopatija nije zabeležena (dijagram 8).



Dijagram 8. Prikaz pacijenata prema N stadijumu bolesti

Na osnovu TNM klasifikacije, karcinom jednjaka može da se podeli na lokalizovanu, lokalno uznapredovalu i metastatsku bolest. Lokalizovani karcinom jednjaka obuhvata tumor in situ kao i bolest ograničenu samo na jednjak (Tis, I i II A klinički stadijum). Kada karcinom jednjaka probija njegov zid, infiltriše okolne organe ili postoje metastaze u regionalnim limfnim žlezdama (stadijum II B i III), bolest se smatra lokalno uznapredovalom. Stadijum IV označava metastatsku bolest.

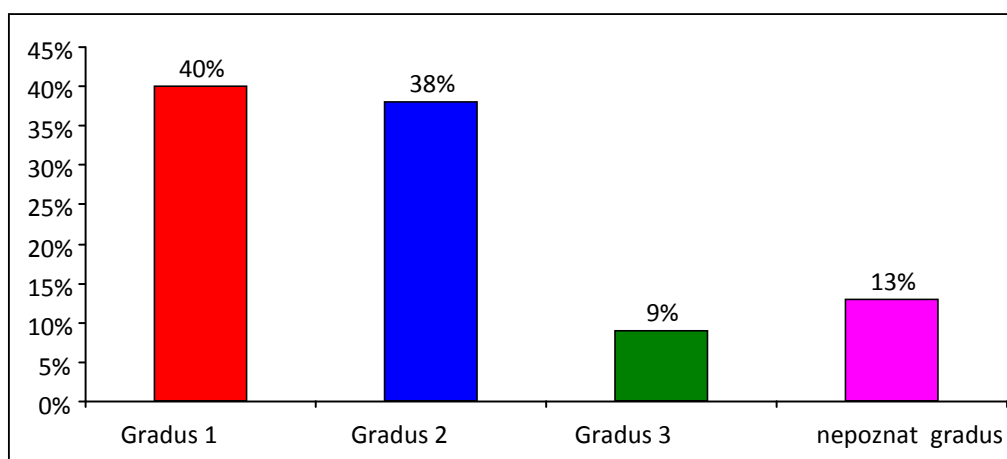
Najveći broj bolesnika naše studije (71%) imao je lokalno uznapredovali karcinom jednjaka (stadijum III). Kod 13 bolesnika (21%) bolest se smatrala lokalizovanom (stadijum II) mada su svi ovi bolesnici imali T3 karcinom jednjaka. 5 bolesnika (8%) imalo je suspektne udaljene metastaze u momenu postavljanja dijagnoze, odnosno bilo je u kliničkom stadijumu IV. Metastatske promene su kod svih bolesnika bile u plućnom parenhimu (dijagram 9).



Dijagram 9. Prikaz pacijenata prema kliničkom stadijumu bolesti

U cilju postavljanja definitivne histopatološke dijagnoze svim bolesnicima je rađen endoskopski pregled jednjaka sa biopsijom tumorske promene. Svi bolesnici uključeni u našu studiju imali su histopatološki verifikovan skvamocelularni karcinom jednjaka. U određivanju histološkog gradusa tumora koristili smo WHO sistem gradiranja. Na dijagramu 10. prikazana je distribucija pacijenata prema histološkom gradusu bolesti. Najveći broj bolesnika (40%) imao je dobro

diferentovanu formu karcinoma jednjaka (gradus 1), srednje diferentovanu formu (gradus 2) čak 38% bolesnika, dok je slabo diferentovan tumor (gradus 3) zabeležen u 9% bolesnika. Za 8 bolesnika (13%) histološki gradus tumora nije mogao biti precizno određen.



Dijagram 10. Prikaz pacijenata prema histološkom gradusu tumora

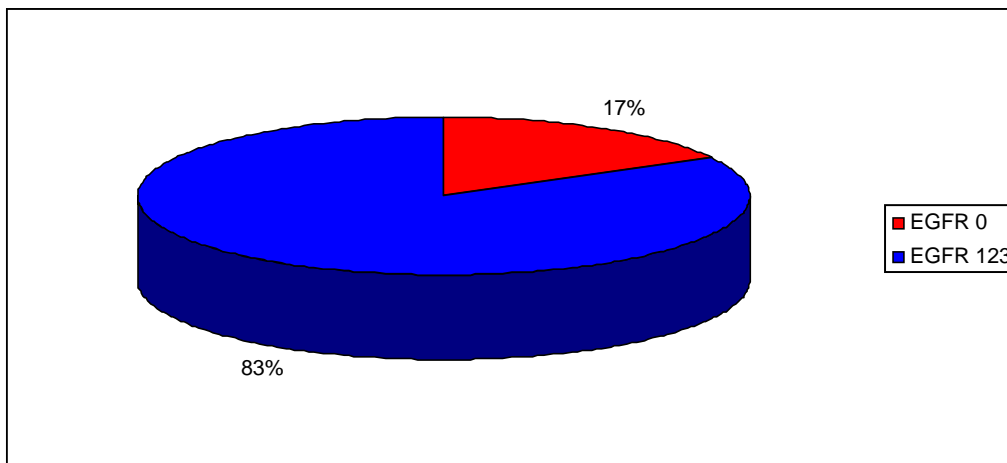
4.2. EKSPRESIJA RECEPTORA ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA

Skvamocelularni karcinomi pokazuju visok nivo ekspresije receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR). U preterapijskom biopsijskom uzorku karcinoma jednjaka, pored stadarde histopatološke verifikacije tumora, kod 40 bolesnika (64%) od 63 uključenih u našu studiju, analiziran je i nivo ekspresije receptora za epidermalni faktor rasta. Određivanje ekspresije EGFR vršeno je standardnom imunohistohemijskom metodom.

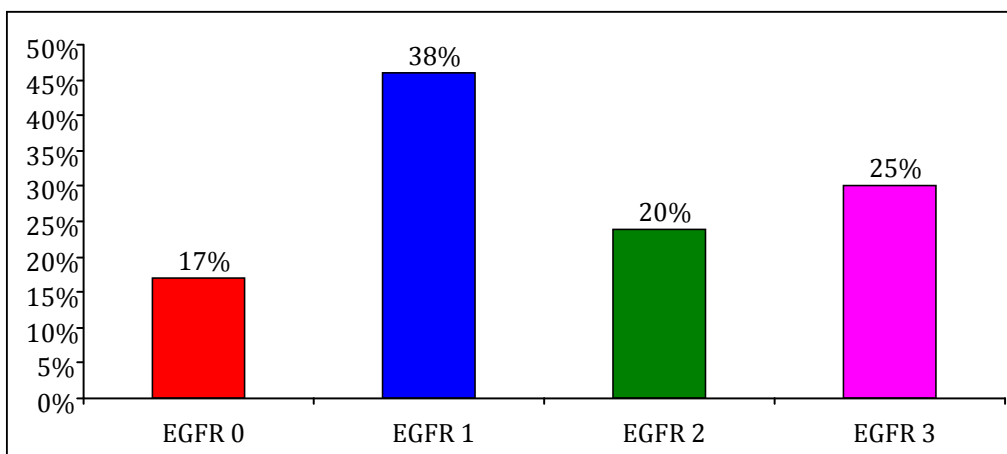
Kod ostalih 23 bolesnika (36%) nivo ekspresije ovog markera nije mogao biti određen usled nedostupnosti ili nepotpunosti originalnog histološkog materijala.

Od 40 analiziranih preterapijskih histoloških uzoraka skvamocelularnog karcinoma jednjaka, pozitivna ekspresija EGFR je zabeležena u 83% slučajeva, odnosno 33 uzorka. U 17% ispitivanih uzoraka nije registrovan povišen nivo ekspresije EGF receptora. Od 33 EGFR pozitivnih uzoraka njih 15 (38%) ispoljilo je slabu pozitivnost (ispod 10% tumorskih ćelija). 8 analiziranih uzoraka (20%)

pokazalo je pozitivnu EGFR ekspresiju gradusa 2 (od 10-50% tumorskih ćelija), dok je visok nivo ekspresije (preko 50%-gradus 3) zabeležen u 10 uzoraka (25%) (dijagram 11 i 12).



Dijagram 11. EGFR ekspresija



Dijagram 12. Prikaz nivoa ekspresije EGFR

Kod skvamocelularnog karcinoma jednjaka, visok nivo ekspresije EGFR dovodi do autonomnog ćelijskog rasta, veće dubine tumorske invazije, vaskularne invazije, angiogeneze i brze pojave metastaza u limfnim žlezdama kao i udaljenih metastaza.

Od 40 uzoraka testiranih na EGFR, T3 tumor je imalo 19 bolesnika, a T4 21 bolesnik. Na tabeli 2. analizirana je korelacija nivoa ekspresije EGFR i T stadijuma

tumora. Od 19 bolesnika u stadijumu T3 kod kojih je analiziran EGFR, njih 84% bilo je EGFR pozitivno. Taj procenat kod T4 bolesnika iznosio je 81%. Osam T3 bolesnika (42%) imalo je visok nivo EGFR, dok je u stadijumu T4 taj broj iznosio 10 (48%). Nisku EGFR ekspresiju imalo je 8 bolesnika sa T3 karcinomom jednjaka (42%), i 7 onih sa T4 tumorom (33%). Bez ekspresije EGFR bilo je 3 bolesnika sa T3 karcinomom jednjaka (16%), i 4 bolesnika sa T4 karcinomom (19%) Nije uočena statistički značajna razlika u nivou ekspresije EGFR za T3 i T4 stadijum bolesti.

Tabela 2. Korelacija nivoa ekspresije EGFR i T stadijuma bolesti

	T3	T4	TOTAL
EGFR 0	3 (16%)	4 (19%)	7 (17,5%)
EGFR 1	8 (42%)	7 (33%)	15 (37,5%)
EGFR 2	4 (21%)	4 (19%)	8 (20%)
EGFR 3	4 (21%)	6 (29%)	10(25%)
TOTAL	19 (100%)	21 (100%)	40 (100%)

Fisher Exact Test: $p=0,969$ ($p>0,05$)

U istoj grupi od 40 uzoraka testiranih na EGFR, 23 bolesnika je inicijalno imalo verifikovanu regionalnu limfadenopatiju, dok je onih bez limfadenopatije bilo 17. Kod 18 bolesnika od 23 (78%) kod kojih je preterapijski verifikovana regionalna limfadenopatija, registrovan je pozitivan nivo ekspresije EGF receptora, u odnosu na 88% kod onih bez limfadenopatije. Visok nivo EGFR ekspresije imalo je 10 N+ bolesnika (43%), a nizak 8 (35%). Kod N0 bolesnika visok nivo ekspresije EGFR je uočen u 8 (47%), a nizak u 7 (41%) slučajeva. Nije uočena statistički značajna razlika u nivou ekspresije EGFR u odnosu na status limfnih žlezda u našoj grupi (tabela 3).

Tabela 3. Korelacija nivoa ekspresije EGFR i N stadijuma bolesti

	N0	N+	TOTAL
EGFR 0	2 (12%)	5 (22%)	7 (17,5%)
EGFR 1	7 (41%)	8 (35%)	15 (37,5%)
EGFR 2	5 (29%)	3 (13%)	8 (20%)
EGFR 3	3 (18%)	7 (30%)	10(25%)
TOTAL	17 (100%)	23(100%)	40 (100%)

Fisher Exact Test: $p=0,504$ ($p>0,05$)

Od pet bolesnika sa inicijalno prisutnim metastazama, dvoje je imalo pozitivnu EGFR ekspresiju. Kod oba ova bolesnika nivo ekspresije EGFR je bio nizak. Jedan bolesnik nije imao ispoljenu EGFR ekspresiju, a za ostala dva nivo ekspresije ovog markera nije mogao biti određen.

U korelaciji nivoa ekspresije EGRF i histološkog gradusa tumora, takođe, nije uočena statistički značajna razlika (tabela 4). U grupi od 40 analiziranih uzoraka, 15 bolesnika je inicijalno imalo dobro diferentovan tumor (histološki gradus 1), srednje diferentovan tumor (gradus 2) imalo je njih 17, a slabo diferentovan (gradus 3) 4 bolesnika. 12 dobro diferentovanih karcinoma (80%) je bilo EGRF pozitivno, kao i 25 % onih gradusa 3. Za srednje diferentovane karcinome broj EGFR pozitivnih uzoraka iznosio je 14 (82%).

Tabela 4. Korelacija nivoa ekspresije EGFR i histološkog gradusa bolesti

	Gradus 1	Gradus 2	Gradus 3	TOTAL
EGFR 0	3 (20%)	3 (18%)	0 (0%)	6 (17%)
EGFR 1	5 (33%)	5 (29%)	3 (75%)	13(36%)
EGFR 2	4 (27%)	2 (12%)	1 (25%)	7 (19%)
EGFR 3	3 (20%)	7 (41%)	0 (0%)	10 (28%)
TOTAL	15 (100%)	17 (100%)	4 (100%)	40 (100%)

Fisher Exact Test: $p=0,487$ ($p>0,05$)

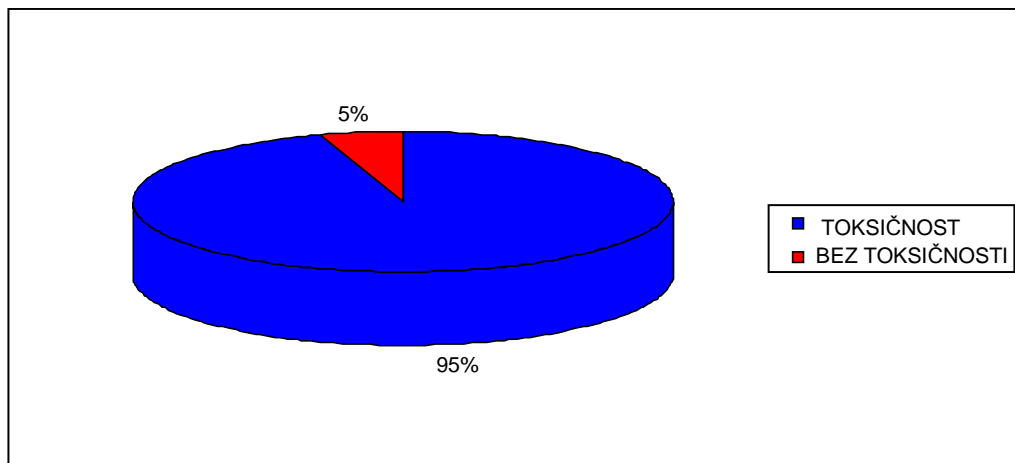
4.3. TOKSIČNOST TRETMANA

Kod svih bolesnika uključenih u studiju sprovedena je neoadjuvantna hemio-radioterapija koja podrazumeva zračnu terapiju tumorskim dozama ranga 45-50,4 Gy u 24-28 frakcija uz konkomitantnu hemioterapiju Cisplatinom i infuzijom visokih doza 5-fluorouracila/leukovorina.

U našoj studiji, u toku zračnog tretmana, jednom nedeljno evidentirane su i skorirane akutne komplikacije na organima od rizika na osnovu NCI-CTC kriterijuma, dok su kasne komplikacije procenjivane u toku redovnih kontrola po završetku lečenja.

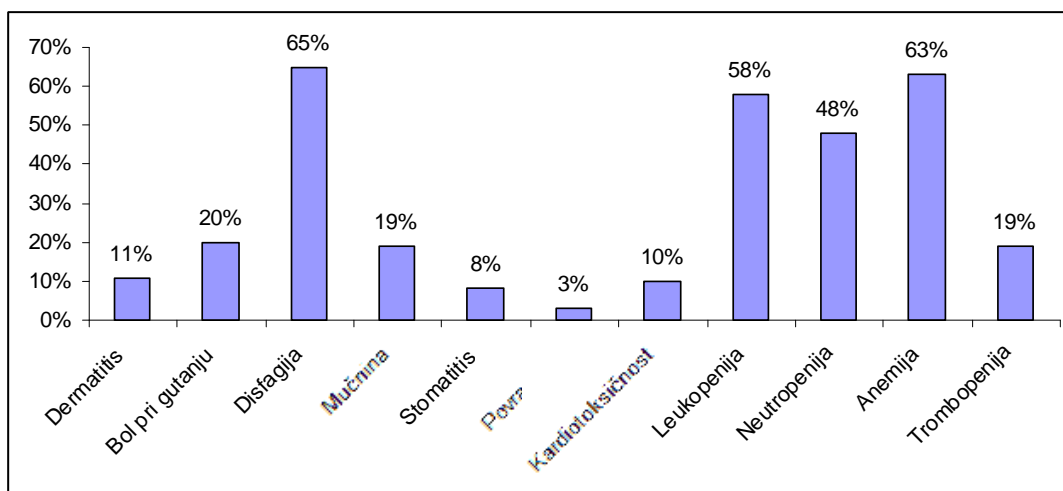
Samo tri bolesnika od 63 (5%) nije ispoljilo nikakvu toksičnost na primenjenu hemio-radioterapiju. Svi ostali, njih 60 (95%), imali su najmanje jednu

vrstu toksičnosti (hematološku ili nehematološku) (dijagram 13). Toksičnost se u proseku ispoljavala u 4 nedelji tretmana nakon aplikovanih TD~30 Gy i 2-3 ciklusa hemioterapije.



Dijagram 13. Toksičnost u celoj grupi bolesnika

Od 60 bolesnika koji su imali neku vrstu toksičnosti tokom primene hemio-radioterapije dermatitis je imalo 7 bolesnika (11%), bol prilikom gutanja 12 (20%), disfagiju 41 (65%), mučninu 12 (19%) bolesnika, stomatitis 3 (8%), a povraćanje je registrovano kod 2 bolesnika (3%). Kao hematološka toksičnost zabeležena je leukopenija kod 37 bolesnika (58%), neutropenija kod 29 (48%), anemija kod 40 (63%) i trombopenija kod 12 bolesnika (19%) (dijagram 14).



Dijagram 14. Vrste toksičnosti

Prema intenzitetu i posledicama akutne komplikacije se mogu podeliti u četiri gradusa, po RTOG skali: gradus I su prolazni simptomi koji ne narušavaju opšte stanje bolesnika i kvalitet života, gradus II su perzistentni ili recidivirajući simptomi koji zahtevaju konzervativni tretman, komplikacije gradusa III onemogućavaju normalno, svakodnevno funkcionisanje bolesnika, a gradus IV su najteže komplikacije sa ireverzibilnim funkcionalnim oštećenjima koja mogu biti i letalna.

Na tabeli 5. dat je prikaz nehematološke toksičnosti u našoj grupi bolesnika.

Tabela 5. Nehematološka toksičnost

	0	1	2	3	4	TOTAL
Dermatitis	52(89%)	5 (8%)	1 (2%)	1(2%)	0(0%)	63(100%)
Disfagija	22(45%)	24(38%)	11(17%)	4 (6%)	2(4%)	63(100%)
Mučnina	51(81%)	9(14%)	3(5%)	0 (0%)	0(0%)	63(100%)
Stomatitis	58(92%)	4 (6%)	1 (2%)	0(0%)	0(0%)	63(100%)
Kardiotoksičnost	57(90%)	3 (5%)	1 (2%)	2(3%)	0(0%)	63(100%)

U našoj grupi od 63 bolesnika pojava dermatitisa je zabeležena kod 7 bolesnika (11 %). U najvećem procentu (8%) dermatitis je bio gradusa 1, a dermatitis gradusa 4 (nekroza kože) nije registrovan.

Disfagija praćena bolnim i otežanim gutanjem posledica je edema i mukozitisa sluznice jednjaka. U našoj studiji zabeležena je u 41 slučaju (65%) od 63 bolesnika. U najvećem procentu (38%) je bila gradusa 1 (otežano gutanje čvrste hrane), ali je i ovako slabo izražena, u 17% slučajeva bila praćena bolom. Disfagiju gradusa 2 (mekka hrana) imalo je 11 naših bolesnika (17%), a disfagiju gradusa 3 (samo tečnost) njih 4 (6%). Kod jednog bolesnika zabeležen je bol gradusa 2 koji je zahtevao primenu intenzivne analgetske terapije uz odgovarajuću ishranu, a dva bolesnika su razvila kompletnu afagiju (4%).

Mučninu prilikom primene hemio-radioterapije imalo je 12 bolesnika (19%). Mučninu gradusa 1 koja se adekvatno kupirala simptomatskom terapijom imalo je 9 bolesnika (14%). Mučnina gradusa 2 zabeležena je kod 3 bolesnika

(5%). Dvoje od ovih bolesnika imalo je i povraćanje gradusa 2 koje je zahtevalo simptomatsku (rehidracionu i antiemetičku) terapiju.

Jedan bolesnik (2%) imao je dijareju tokom primene hemio-radioterapije i ona je bila gradusa 2 te je ordinirana simptomatska terapija.

Stomatitis kao posledicu primene 5FU imalo je 5 bolesnika (8%). Stomatitis gradusa 1 (hiperemija) imalo je 4 bolesnika (6%), dok je kod jednog bolesnika (2%) zabeležen stomatitis gradusa 2 (hiperemija, ulceracije sluznice).

Kardiotoksičnost se neretko javlja kao posledica primene polihemioterapije. U slučaju karcinoma jednjaka, radioterapija doprinosi ovom neželjenom efektu. U našoj grupi kardiotoksičnost je bila značajna i zabeležena je kod 6 bolesnika (10%). Kod 3 bolesnika (5%) kardiotoksičnost je bila gradusa 1, kod 1 (2%) gradusa 2, a u dva slučaja (3%) zabeležena je kardiotoksičnost gradusa 3. Ovi bolesnici bili su pod intenzivnom kardiološkom opservacijom i terapijom, a bolesnicima kod kojih je kardiotoksičnost bila gradusa 2 i 3 prekinuta je dalja hemioterapija.

Hematotoksičnosti je najčešća komplikacija primene hemioterapije i uključuje leukocitopeniju, trombocitopeniju i anemiju. Posledica je mijelosupresivnog efekta citostatika. U našoj studiji jednom nedeljno kontrolisana je kompletna krvna slika i serumska biohemija, a po potrebi i češće. Na tabeli 6. dat je prikaz hematotoksičnosti u celoj grupi bolesnika.

Tabela 6. Hematološka toksičnost

	0	1	2	3	4	TOTAL
Leukopenija	26(41%)	7 (11%)	9 (14%)	14(22%)	7(11%)	63(100%)
Neutropenija	34(54%)	2 (3%)	4 (6%)	9 (14%)	14(22%)	63(100%)
Anemija	23(37%)	26(41%)	11(17%)	2 (3%)	1 (2%)	63(100%)
Trombopenija	51(81%)	7 (11%)	4 (6%)	1 (2%)	0 (0%)	63(100%)

U našoj grupi od 63 bolesnika njih 37 (58%) imalo je ispoljenu leukopeniju. Od toga je njih 7 (11%) imalo leukopeniju gradusa 4, a 14 (22%) neutropeniju gradusa 4. Leukopenija gradusa 3 zabeležena je kod 14 bolesnika (22%), gradusa 2 kod 9 (14%), dok je 7 bolesnika (11%) imalo leukopeniju gradusa 1. Neutropeniju

gradusa 3 imalo je 9 bolesnika (14%), gradusa 2 četiri bolesnika (6%), dok su 2 bolesnika (3%) imala neutropeniju gradusa 1. Febrilna neutropenija (leukopenija i neutropenija gradusa 3 i 4 praćeni febrilnošću) verifikovana je kod 8 (13%) bolesnika. Ovi bolesnici izolovani su u sterilni blok i ordinirana im je intenzivna simptomatska i suportivna terapija.

Anemija je registrovana kod 40 bolesnika (63%) naše studije. Od tog broja, njih 26 (41%) imalo je anemiju gradusa 1, a 11 bolesnika (17%) anemiju gradusa 2. Anemiju gradusa 3 imalo 2 bolesnika (3%) i njima je ordinirana transfuziona terapija. Jedan bolesnik (2%) razvio je anemiju gradusa 4 zbog ponavljanoog krvarenja iz tumora.

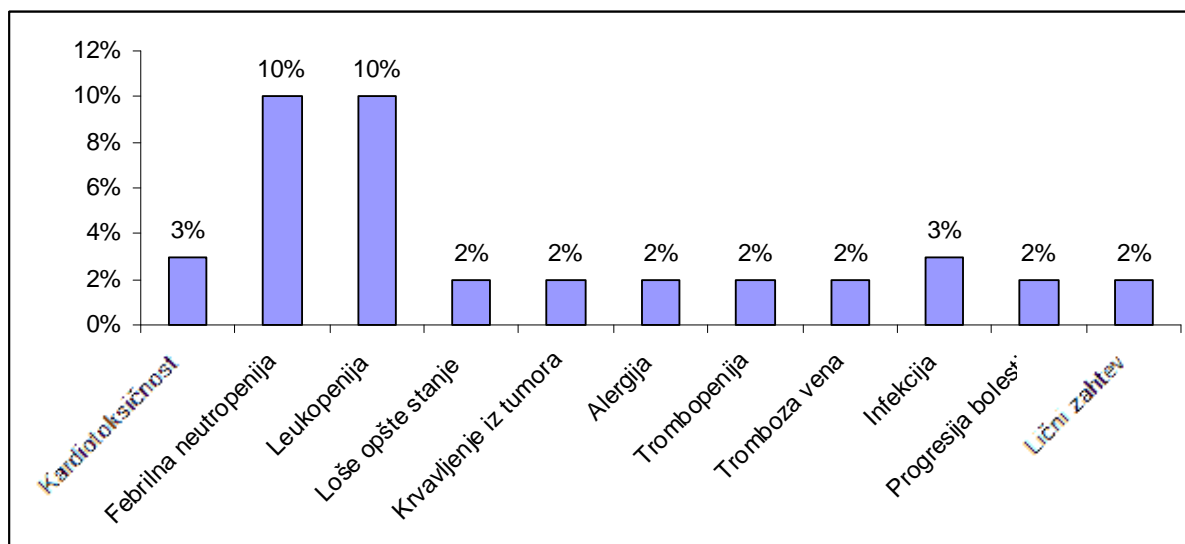
Trombopenija kao hematološka toksičnost verifikovana je kod 12 naših bolesnika (19%). Trombopeniju gradusa 1 imalo je 7 bolesnika (11%), gradusa 2 četiri bolesnika (6%), a gradusa 3 jedan bolesnik naše grupe (2%).

Od ostalih komplikacija zabeležene su tromboza dubokih vena kod 4 bolesnika (6%), malaksalost kod 4 bolesnika (6%), kao i elektrolitni disbalans posebno u vidu hipokalijemije koja je, takođe, registrovana kod 4 naša bolesnika (6%).

Svi bolesnici naše studije završili su kompletan kurs radioterapije. Od 63 bolesnika uključenih u studiju, njih 40 (63%) primilo je sva četiri ciklusa konkomitantne hemioterapije. Ostalih 23 (37%) je prekinulo hemioterapiju zbog ispoljene toksičnosti i loše subjektivne tolerancije. Kod 10 bolesnika (16%) hemioterapija je prekinuta nakon 3 ciklusa, a kod 13 (21%) nakon 2 ciklusa hemioterapije.

Kao uzrok prekida hemioterapije zabeležena je kardiotoksičnost kod dva bolesnika (3%), febrilna neutropenija kod 6 (10%), leukopenija u 6 slučajeva (10%), jedan bolesnik je prekinuo hemioterapiju zbog lošeg opšteg stanja, jedan zbog ponavljanoog krvavljenja iz tumora, jedan zbog alergijske reakcije na hemioterapiju, jedan zbog trombopenije, jedan zbog tromboze dubokih vena i trombektomije, dva bolesnika zbog infekcije respiratornih puteva, dok je jedan bolesnik odustao od hemioterapije na lični zahtev. Kod jednog bolesnika tokom

lečenja zabeležena je progresija bolesti te se odustalo od dalje primene hemioterapije dok je zračna terapija nastavljena kao definitivna terapija (dijagram 15).



Dijagram 15. Uzroci prekida hemio-radioterapije

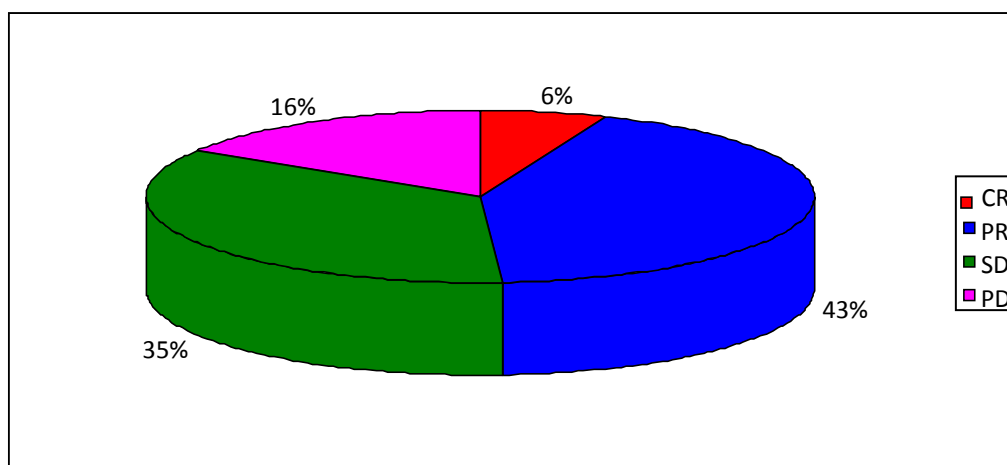
8 bolesnika (13%) naše grupe imalo je odlaganje hemioterapije zbog ispoljene toksičnosti gradusa 3 ili 4. Kod 5 bolesnika (8%) terapija je privremeno prekinuta zbog leukopenije gradusa 3 ili 4, kod 2 (3%) zbog febrilne neutropenije, a kod jednog bolesnika (2%) zbog trombopenije. Pauza u terapiji je u proseku trajala 8 dana (rang 3-14 dana).

23 bolesnika (37%) je imalo pauzu u zračnom tretmanu. Pauza je u proseku trajala 13 dana (rang 5-52 dana). 15 bolesnika (24%) je privremeni prekid u radioterapiji imalo zbog leukopenije gradusa 3 i 4. Četiri bolesnika (6%) je razvilo disfagiju gradusa 3 i 4, dvoje (3%) je imalo trombozu dubokih vena, jedan bolesnik je pao i zadobio prelom humerusa, a jedan je imao elektrolitni disbalans praćen malaksalošću. Kod jednog bolesnika zabeležena je kardiotoksičnost gradusa 3. Svim bolesnicima ordinirana je adekvatna simptomatska i suportivna terapija i po oporavku krvne slike i opšteg stanja nastavili su predviđeni tretman.

4.4. KLINIČKA PROCENA ODGOVORA NA HEMIO-RADIOTERAPIJU

Klinička procena odgovora na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju vršena je nakon pet do šest nedelja po završetku lečenja na osnovu nalaza CT ili MRI toraksa i gornjeg abdomena, kontrolne ezofagoskopije i ezofagografije, kompletne krvne slike i serumske biohemije i kliničkog pregleda, kao i ostalih pretraga prema mišljenju nadležnog terapeuta. Kompletan odgovor označen je kao odsustvo bolesti (tumora, limfnih žlezda, metastaza) na osnovu navedenih procedura.

U našoj studiji od 63 bolesnika, kompletan klinički odgovor zabeležen je kod 4 bolesnika (6%). Njih 27 (43%) ostvarilo je parcijalnu regresiju, dok je stabilizacija bolesti verifikovana kod 22 bolesnika (35%). Neposredno po završetku lečenja progresija bolesti je registrovana kod 10 bolesnika (16%) (dijagram 16).



Dijagram 16. Klinički odgovor na hemio-radioterapiju

Na tabeli 7. analiziran je klinički odgovor na hemio-radioterapiju u zavisnosti od T stadijuma bolesti. Bolesnici sa karcinomom jednjaka u stadijumu T3 imali su kompletan odgovor na primenjenu terapiju u jednom slučaju (3%), dok je parcijalna regresija uočena kod 15 bolesnika (50%). Stabilizacija bolesti je postignuta kod 10 bolesnika (33%), dok je 4 (13%) progrediralo. U stadijumu T4 kompletna regresija je uočena u 3 bolesnika (10%), parcijalna regresija u 12 (36%), stabilizacija bolesti kod 12 (36%) bolesnika, a progresija kod 6 bolesnika

(18%). Nije uočena statistički značajna razlika u kliničkom odgovoru na hemio-radioterapiju u zavisnosti od T stadijuma (tabela 7).

Tabela 7. Klinički odgovor na hemio-radioterapiju prema T stadijumu

	T3	T4
CR	1 (3,3%)	3 (10%)
PR	15 (50%)	12 (36%)
SD	10 (33,3%)	12 (36%)
PD	4 (13,3%)	6 (18%)
TOTAL	30 (100%)	33 (100%)

Fisher Exact Test:p=0,652 (p>0,05)

Status limfnih žlezda se smatra značajnim prognostičkim faktorom u smislu odgovora na hemio-radioterapiju karcinoma jednjaka. U našoj studiji nije uočena statistički značajna razlika u odgovoru na neoadjuvantnu terapiju bolesnika kod kojih je inicijalno dokazana limfadenopatija u odnosu na one bez limfadenopatije (Tabela 8).

Tabela 8. Klinički odgovor na hemio-radioterapiju prema N stadijumu

	N0	N+
CR	1 (5%)	3 (7%)
PR	8 (36%)	19 (46%)
SD	9 (41%)	13 (32%)
PD	4 (18%)	6 (15%)
TOTAL	22 (100%)	41 (100%)

Fisher Exact Test:p=0,828 (p>0,05)

U odnosu na klinički stadijum bolesti odgovor na hemio-radioterapiju je prikazan na tabeli 9. Podjednak broj bolesnika (38,5%) u II A stadijumu bolesti ostvario je parcijalnu regresiju i stabilizaciju bolesti na hemio-radioterapiju, dok je progresija zabeležena kod 3 bolesnika (23%). Ni jedan bolesnik u II A stadijumu bolesti nije ostvario kompletnu remisiju. S druge strane, bolesnici u III kliničkom stadijumu imali su kompletnu remisiju u 4 slučaja (9%), dok je parcijalna regresija zabeležena kod 22 bolesnika (49%). 5 bolesnika (11%) u III kliničkom stadijumu je

progrediralo na hemio-radioterapiju. Kod bolesnika inicijalno u IV stadijumu (metastatski stadijum) odgovor je bio sledeći: nije zabeležena kompletna ni parcijalna regresija. Tri bolesnika (60%) su postigla stabilizaciju bolesti, dok je dvoje (40%) dalje progrediralo. U našoj studiji nije uočena statistički značajana razlika u kliničkom odgovoru na hemio-radioterapiju u zavisnosti od kliničkog stadijuma bolesti (tabela 9).

Tabela 9. Klinički odgovor na hemio-radioterapiju prema inicijalnom kliničkom stadijumu

	IIA	III	IV
CR	0 (0%)	4 (9%)	0 (0%)
PR	5 (38,5%)	22 (49%)	0 (0%)
SD	5 (38,5%)	14 (31%)	3 (60%)
PD	3(23%)	5 (11%)	2 (40%)
TOTAL	13 (100%)	45 (100%)	5 (100%)

Fisher Exact Test:p=0,179 (p>0,05)

Svi bolesnici naše grupe imali su histopatološki potvrđen skvamocelularni karcinom jednjaka. U zavisnosti od histološkog gradusa analiziran je odgovor na inicijalnu hemio-radioterapiju i rezultati su prikazani na tabeli 10. Kompletna klinička remisija bolesti zabeležena je kod jednog bolesnika (4%) sa dobro diferentovanim tumorom, dok je kod onih sa slabo diferentovanim taj broj iznosio 0 (0%). Parcijalna regresija je postignuta kod 10 (40%) dobro diferentovanih, 11 (46%) srednje diferentovanih i 2 (33%) slabo diferentovana tumora. Stabilizacija bolesti je u najvećem procentu (48%) zabeležena kod dobro diferentovanih tumora (gradus 1), dok je progresiju bolesti nakon hemio-radioterapije imalo najviše bolesnika sa srednje diferentovanim tumorom (25%). Nije uočena statistički značajna razlika u kliničkom odgovoru na hemio-radioterapiju u zavisnosti od histološkog gradusa tumora (tabela 10).

Tabela 10. Klinički odgovor na hemio-radioterapiju prema histološkom gradusu

	Gradus 1	Gradus 2	Gradus 3
CR	1 (4%)	2 (8%)	0 (0%)
PR	10 (40%)	11 (46%)	2 (33,3%)
SD	12 (48%)	5 (21%)	2 (33,3%)
PD	2(8%)	6 (25%)	2 (33,3%)
TOTAL	25 (100%)	24(100%)	6 (100%)

Fisher Exact Test:p=0,318 (p>0,05)

4.4.1. Korelacija EGFR ekspresije i kliničkog odgovora na hemio-radioterapiju

Na osnovu dosadašnjih studija, pozitivna EGFR ekspresija inverzno koreliše sa odgovorom na hemio-radioterapiju. U našoj studiji od 63 uključenih bolesnika, 40 (67%) je testirano na EGFR. U ovoj grupi od 40 bolesnika, sva tri bolesnika koja su postigla kompletnu kliničku remisiju bila su EGFR pozitivna (7,5%). Od 16 bolesnika koji su ostvarili parcijalnu regresiju, 12 bolesnika (30%) je bilo EGFR pozitivno, a 4 (10%) EGFR negativno. Stabilizacija bolesti je uočena kod 13 bolesnika ove grupe. Od toga je 12 bolesnika (30%) bilo EGFR pozitivno, a jedan bolesnik (2,5%) je bio EGFR negativan. Progresija bolesti verifikovana kod 6 (15%) EGFR pozitivnih i 2 (5%) EGFR negativna bolesnika. Nismo uočili statistički značajnu razliku u kliničkom odgovoru na hemio-radioterapiju u zavisnosti od ekspresije receptora za epidermalni faktor rasta (tabela 11).

Tabela 11. Klinički odgovor na hemio-radioterapiju u zavisnosti od EGFR ekspresije

	EGFR 0	EGFR 1	EGFR 2	EGFR 3	TOTAL
CR	0 (0%)	1 (7%)	2 (25%)	0 (0%)	3 (7,5%)
PR	4 (57%)	3 (20%)	3(37,5%)	6 (60%)	16 (40%)
SD	1 (14%)	8 (53%)	2 (25%)	2 (20%)	13 (32,5%)
PD	2 (29%)	3(20%)	1(12,5%)	2 (20%)	8 (20%)
TOTAL	7(100%)	15(100%)	8(100%)	10(100%)	40 (100%)

Fisher Exact Test:p=0,327 (p>0,05)

4.5. HIRURŠKA RESEKCIJA-evaluacija resektabilnosti

Po završetku hemio-radioterapije, pacijenti prevedeni u operabilni stadijum bolesti, kao i oni u dobrom opštem stanju podvrgnuti su hirurškoj resekciji jednjaka. Pre hirurške resekcije vršena je procena operabilnosti i podobnosti svakog pacijenta za operaciju. Bolesnici koji nisu bili podobni za operaciju nakon hemio-radioterapije nastavljali su lečenje hemioterapijom i/ili simptomatskom i suportivnom terapijom.

Od 63 bolesnika uključenih u studiju operisano je njih 23 (37%). Na tabeli 12. dat je prikaz kliničkih karakteristika operisanih bolesnika.

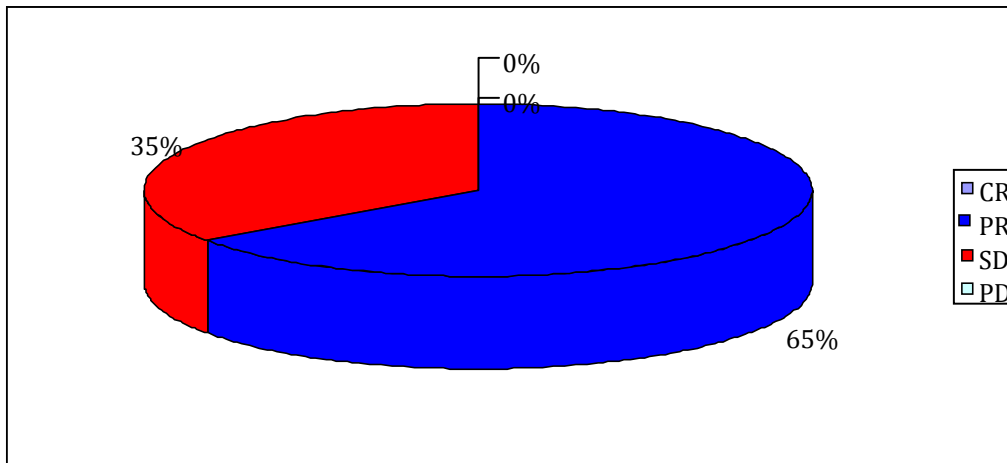
Tabela 12. Kliničke karakteristike operisanih bolesnika (N=23)

Starost (godine) Srednja starost 57 Rang 34-74	34-49	7	30 %
	50-59	8	35 %
	60-69	7	30 %
	70-79	1	5 %
pol	žene	3	13 %
	muškarci	20	87 %
Performance status (Karnofsky index %)	70	0	0 %
	80	7	30 %
	90	11	48 %
	100	5	22 %
Stepen disfagije	Bez disfagije	0	0 %
	Čvrsta hrana, bol pri gutanju	16	69 %
	Kašasta hrana	5	22 %
	Tečna hrana	0	0 %
	Afagija	2	9 %
Gubitak u telesnoj težini	Bez gubitka	2	9 %
	1-5 kg	7	30 %
	5-10 kg	8	35 %
	>10 kg	6	26 %
Ćelijski tip Skvamocelularni karcinom	Gradus 1	14	61 %
	Gradus 2	6	26 %
	Gradus 3	1	4 %
	nepoznat gradus	2	9 %
Klinički stadijum (CS)	T3 N0 M0 CS II	4	17 %
	T3 N1 M0 CS III	9	39 %
	T4 N0 M0 CS III	3	13 %
	T4 N1 M0 CS III	5	22 %
	T4 N1 M1 CS IV	2	9 %
Lokalizacija	Cervikalni jednjak	1	5 %
	Gornja trećina torakalnog jednjaka	9	39 %
	Srednja trećina torakalnog jednjaka	13	56 %
	Donja trećina torakalnog jednjaka	0	0 %

U grupi operisanih bolesnika prosečna starost iznosila je 57 godina (rang 34-74). Operisane su 3 žene (13%) i 20 muškaraca (87%), i svi su bili inicijalno dobrog opšteg stanja (KI \geq 80). Dva bolesnika (9%) imala su inicijalno skoro potpunu afagiju, dok je disfagija gradusa 1 zabeležena kod 16 bolesnika (69%). Gubitak na telesnoj težini preko 10 kilograma imalo je 6 operisanih bolesnika (26%). T3 stadijum bolesti imalo je 13 bolesnika (56%), a T4 njih 10 (44%). Regionalna limfadenopatija registrovana je kod 16 bolesnika (69%). U kliničkom stadijumu IIA bilo je 4 bolesnika (17%), u stadijumu III njih 17 (74%), a u metastatskom dva bolesnika (9%). Kod oba bolesnika metastaze su bile u plućnom parenhimu. Slabo diferentovan tumor imao je jedan bolesnik (5%), a dobro diferentovan njih 14 (61%). Najveći broj bolesnika (56%) imao je tumor lokalizovan u srednjoj trećini torakalnog jednjaka.

Svim operisanim bolesnicima aplikovana je predviđena doza radioterapije (TD 45-50,4Gy). Šest bolesnika (26%) nije završilo kompletan kurs hemioterapije usled toksičnosti: 2 bolesnika (9%) su prekinula hemioterapiju nakon dva, a 4 (17%) nakon tri ciklusa. Uzrok prekida hemioterapije kod 4 bolesnika (16%) bila je leukopenija, kod jednog (5%) febrilna neutropenija, a kod jednog (5%) tromboza dubokih vena koja je zahtevala trombektomiju.

Od 23 operisana bolesnika ni jedan bolesnik nije imao ostvarenu kompletnu kliničku remisiju na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju. Parcijalnu regresiju imalo je 15 bolesnika (65%), a stabilizacija bolesti je verifikovana kod 8 bolesnika (35%) (dijagram 17).



Dijagram 17. Klinički odgovor na hemio-radioterapiju operisanih bolesnika

Skoro dve trećine operisanih bolesnika (73%) imalo je subtotalnu ezofagektomiju sa ezofagogastro anastomozom (sec. Ivor-Lewis). Jedan bolesnik je imao totalnu ezofagektomiju, a kod jednog je pored parcijalne ezofagektomije u istom aktu učinjena i resekcija pluća. Svi bolesnici operisani su sa R0 resekcijom. Za četiri bolesnika (17%) nije precizno naveden tip operacije.

U postoperativnom toku umrlo je 4 bolesnika (1%), a kao uzrok smrti navodi se curenje anastomoze, krvavljenje, edem pluća i srčana insuficijencija.

Od 63 bolesnika uključenih u studiju, njih 40 (63%) nije operisano: 26 bolesnika (65%) je bilo narušenog opšteg stanja, četvoro (10%) je odbilo operaciju, dok je 10 bolesnika (25%) na prvoj kontroli imalo dokazanu progresiju bolesti.

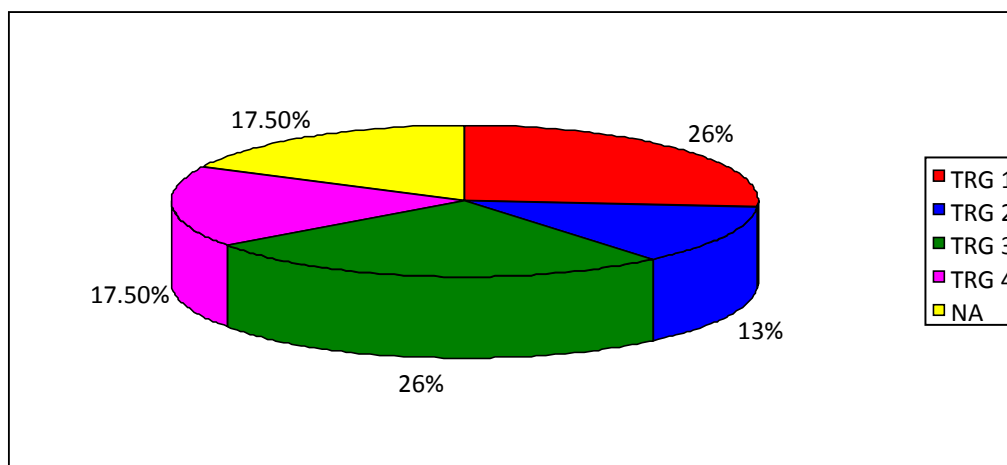
4.6. TUMORSKI REGRESIONI GRADUS-analiza

Histopatološka eksploracija resekovanog uzorka podrazumeva ypTNM klasifikaciju, rezidualni status i regresioni status (TRG) na osnovu Mandard kriterijuma.

Ni jedan od operisanih bolesnika naše grupe nije imao rezidualnu bolest po operaciji, tj svi su operisani sa R0 resekcijom.

Tumorski regresioni gradus 1 zabeležen je kod 6 od 23 operisana bolesnika (26%). TRG 2 registrovan je kod 3 bolesnika (13%), a TRG 3 kod 6 bolesnika

(26%). TRG 4 uočen je kod 4 operisana bolesnika (17,5%), dok za 4 bolesnika (17,5%) TRG nije mogao biti precizno određen (NA-Engl.*not available*) (dijagram 18).



Dijagram 18. Prikaz tumorskog regresionog gradusa (TRG) u grupi operisanih bolesnika (N=23)

Ni jedan bolesnik koji je ostvario kliničku kompletnu regresiju nije operisan te za njih nije evidentiran tumorski regresioni gradus. Od 15 operisanih bolesnika kod kojih je klinički odgovor procenjen kao parcijalna regresija njih 5 (33,3%) je nakon histološke verifikacije resekovanog uzorka klasifikovano kao TRG 1, dvoje (13,3%) kao TRG 2, četvero (27%) kao TRG 3, dok je kod 2 bolesnika (13,3%) histološki uočeno odsustvo odgovora na kombinovanu terapiju. Za dva bolesnika sa parcijalnim odgovorom TRG nije mogao biti precizno određen. Takođe, od 8 operisanih bolesnika kod kojih je klinički odgovor procenjen kao stabilizacija bolesti, za dvoje (25%) TRG nije određen. Kompletna histološka regresija je verifikovana kod jednog bolesnika (12,5%), TRG 2 kod jednog (12,5%), TRG 3 kod 2 bolesnika (25%), kao i TRG 4 (25%) (tabela 13) Statistički značajna razlika nije uočena.

Tabela 13. Korelacija kliničkog odovora i TRG

	PR	SD	TOTAL
TRG 1	5 (33,3%)	1(12,5%)	6 (26%)
TRG 2	2 (13,3%)	1(12,5%)	3 (13%)
TRG 3	4 (27%)	2 (25%)	6 (26%)
TRG 4	2(13,3%)	2 (25%)	4 (17,5%)
NA	2 (13,3%)	2 (25%)	4 (17,5%)
TOTAL	15(100%)	8(100%)	23(100%)

Fisher Exact Test:p=0,900 (p>0,05)

Korelacijom tumorskog regresionog gradusa i inicijalnog stadijuma bolesti nije uočena statistički značajna razlika (Tabela 14). TRG 1 verifikovan je kod 2 (15%) T3 bolesnika i 4 (40%) T4 bolesnika, dok je odsustvo odgovora (TRG 4) zabeleženo kod 3 (23%) T3 i jednog (10%) T4 bolesnika (tabela 14).

Tabela 14. Korelacija inicijalnog T stadijuma bolesti i tumorskog regresionog gradusa

	T3	T4	TOTAL
TRG 1	2(15%)	4 (40%)	6 (26%)
TRG 2	1 (8%)	2 (20%)	3 (13%)
TRG 3	5 (39%)	1 (10%)	6 (26%)
TRG 4	3(23%)	1 (10%)	4 (17,5%)
NA	2(15%)	2 (20%)	4 (17,5%)
TOTAL	13 (100%)	10(100%)	23(100%)

Fisher Exact Test:p=0,256 (p>0,05)

Dva bolesnika sa inicijalno prisutnim sekundarnim depozitima u plućima su nakon neoadjuvantne hemio-radioterapije podvrgnuti operaciji. Jedan bolesnik imao je skoro kompletan tumorski odgovor (TRG 2) i kod njega je u istom aktu sa resekcijom jednjaka učinjena i resekcija pluća. Za drugog bolesnika TRG nije mogao biti precizno određen.

Inicijalno prisutna regionalna limfadenopatija nije inverzno korelirala sa odgovorom na hemio-radioterapiju naših bolesnika. Četiri N+ bolesnika (25%) ostvarilo je TRG 1 na neoadjuvantnu terapiju. TRG 3 zabeležen je kod 3 bolesnika (19%) kao i TRG 4. U N0 grupi TRG 1 je zabeležen kod 2 bolesnika (29%), TRG 3

kod 3 bolesnika (43%) i TRG 4 jednog (14%) bolesnika. Za tri N+ i jednog N0 bolesnika tumorski regresioni gradus nije određen (tabela 15).

Tabela 15. Korelacija inicijalnog N statusa bolesti i tumorskog regresionog gradusa

	N0	N+	TOTAL
TRG 1	2(29%)	4(25%)	6 (26%)
TRG 2	0 (0%)	3(19%)	3 (13%)
TRG 3	3 (43%)	3(19%)	6 (26%)
TRG 4	1(14%)	3(19%)	4 (17,5%)
NA	1(14%)	3(19%)	4 (17,5%)
TOTAL	7 (100%)	16 (100%)	23(100%)

Fisher Exact Test:p=0,625 (p>0,05)

Za jednog operisanog bolesnika sa slabo diferentovanim tumorom TRG nije mogao biti određen, dok za dva bolesnika histološki gradus nije bio precizno definisan. Bolesnici kod kojih je preterapijski histološki dokazan srednje diferentovan tumor ostvarili su kompletnu regresiju (TRG 1) u 17% slučajeva, TRG 2 takođe u 17%, dok odsustvo odgovora (TRG 4) nije zabeleženo ni kod jednog bolesnika. S druge strane bolesnici sa dobro diferentovanim tumorom imali su TRG 1 u 35 % slučajeva, TRG 2 u 14% i TRG 4 u 22% slučajeva. Nije uočena statistički značajna razlika u tumorskom regresionom gradusu u odnosu na stepen diferentovanosti tumora (tabela 16).

Tabela 16. Korelacija inicijalnog histološkog gradusa bolesti i tumorskog regresionog gradusa

	Gradus 1	Gradus 2	Gradus 3	NA	TOTAL
TRG 1	5(35%)	1(17%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (26%)
TRG 2	2 (14%)	1(17%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (13%)
TRG 3	3 (22%)	3 (49%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (26%)
TRG 4	3 (22%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	4 (17,5%)
NA	1 (7%)	1(17%)	1(100%)	1 (50%)	4 (17,5%)
TOTAL	14 (100%)	6 (100%)	1(100%)	2 (100%)	23(100%)

Fisher Exact Test:p=0,653 (p>0,05)

4.6.1. Korelacija EGFR ekspresije i tumorskog regresionog gradusa

Nivo ekspresije EGFR se smatra negativnim prediktivnim faktorom u smislu odgovora na hemio-radioterapiju. Naime, bolesnici kod kojih je preterapijski registrovana pozitivna EGFR ekspresija u uzorku karcinoma jednjaka imaju tendenciju lošijeg odgovora na hemio-radioterapiju.

U našoj studiji nije uočena statistički značajna razlika u patohistološkom odgovoru na hemio-radioterapiju u zavisnosti od nivoa ekspresije EGF receptora. Svi bolesnici kod kojih je inicijalno registrovan visok nivo EGFR imali su kompletan patohistološki odgovor na hemio-radioterapiju, dok kod EGFR negativnih bolesnika nema razlike u odgovoru na inicijalnu terapiju. Na tabeli 17. dat je prikaz tumorskog regresionog gradusa i inicijalne ekspresije EGFR u našoj grupi bolesnika (tabela 17).

Tabela 17. Korelacija EGFR ekspresije i tumorskog regresionog gradusa u grupi operisanih bolesnika

	EGFR 0	EGFR 1	EGFR 2	EGFR 3	NA	TOTAL
TRG 1	1 (25%)	1(33,3%)	2(100%)	2(100%)	0 (0%)	6 (26%)
TRG 2	1 (25%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (17%)	3 (13%)
TRG 3	1 (25%)	1(33,3%)	0 (0%)	0 (0%)	4(33,3%)	6 (26%)
TRG 4	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4(33,3%)	4 (17,5%)
NA	1 (25%)	1(33,3%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (17%)	4 (17,5%)
TOTAL	4(100%)	3(100%)	2(100%)	2(100%)	12(100%)	23(100%)

Fisher Exact Test:p=1 (p>0,05)

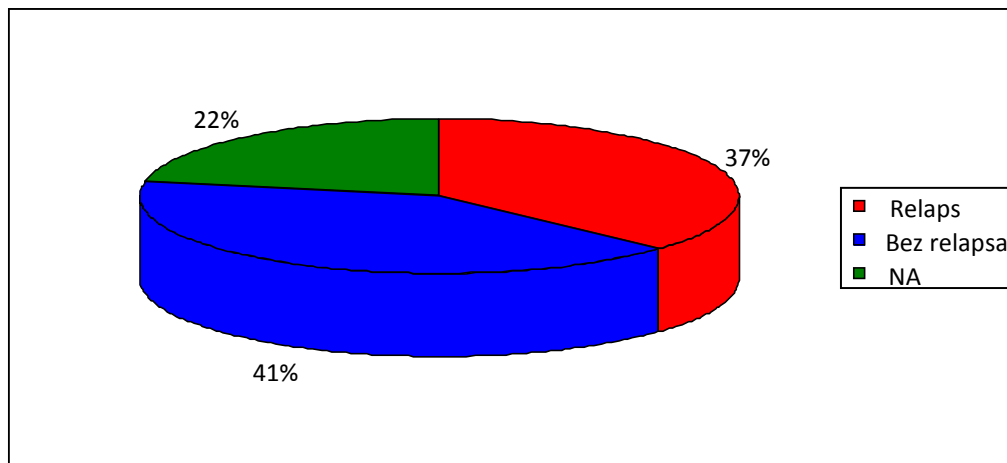
4.7. LOKALNA KONTROLA I RELAPS BOLESTI

U našoj studiji pojava relapsa definisana je kao prisustvo lokalnog ili regionalnog recidiva i/ili metastaza. Evidentirana je vrsta, kao i mesto pojave relapsa.

4.7.1. Lokalna kontrola i relaps bolesti u celoj grupi bolesnika

Nakon sprovedene hemio-radioterapije i operacije u srednjem vremenu praćenja od 9 meseci (rang 2-31 mesec) 23 bolesnika (37%) je imalo relaps bolesti

(dijagram 19). Kontrola bolesti je postignuta kod 41% bolesnika, a četrnaest bolesnika (22%) je izgubljeno iz praćenja i za njih nije registrovan relaps (NA).



Dijagram 19. Relaps bolesti u celoj grupi bolesnika

Od 23 bolesnika koji su relapsirali, lokalna progresija verifikovana je kod 26% bolesnika, dok su udaljene metastaze bile prisutne kod 17 bolesnika (74%). Metastaze su registrovane u regionalnim limfnim žlezdama (3 bolesnika), plućima (7 bolesnika), jetri (3 bolesnika), kostima (3 bolesnika) i u mozgu (1 bolesnik).

Kod bolesnika koji su relapsirali, u zavisnosti od njihovog opšteg stanja i vrste relapsa lečenje je nastavljeno adjuvantnom hemioterapijom, palijativnom radioterapijom, palijativnom operacijom (nutritivna gastrostoma), plasiranjem stenta ili simptomatsko/suportivnom terapijom.

Od 23 bolesnika koji su relapsirali, njih dvoje (9%) je nastavilo hemioterapiju, troje (13%) je imalo dodatnu palijativnu radioterapiju, dok je kod 5 (22%) kao palijativna operacija izvedena nutritivna gastrostoma, kod 3 (13%) palijativni stent, kod jednog (4%) metastazektomija depozita u plućima, a kod ostalih 9 (39%) dalje je sprovedena samo simptomatska i suportivna terapija.

Na tabeli 18. dat je prikaz relapsa bolesti u zavisnosti od T stadijuma u celoj grupi bolesnika. Analiziranjem ovih rezultata uočena je skoro statistički značajna razlika u pojavi relapsa između T3 i T4 stadijuma bolesti. Od 30 bolesnika sa T3

tumorom relapsiralo je njih 8 (27%), dok je kod T4 bolesnika taj procenat iznosio 45%.

Tabela 18. Relaps bolesti u celoj grupi bolesnika u odnosu na T stadijum

	T3	T4	TOTAL
Bez relapsa	16(53%)	10(30%)	26 (41%)
Sa relapsom	8 (27%)	15(45%)	23 (37%)
NA	6 (20%)	8 (24%)	14 (22%)
TOTAL	30 (100%)	33 (100%)	63(100%)

X² test: 3,496; df=1; p=0,0615 (p>0,05)

Od 41 bolesnika kod kojih je inicijalno zabeležena limfadenopatija relapsiralo je njih 11 (27%). U grupi od 22 bolesnika bez limfadenopatije zabeleženo je 12 relapsa bolesti (54%). Statistički značajna razlika nije potvrđena iako je testiranje blizu statističke značajnosti (tabela 19).

Tabela 19. Relaps bolesti u celoj grupi bolesnika u odnosu na N stadijum

	N0	N+	TOTAL
Bez relapsa	7 (32%)	19(46%)	26 (41%)
Sa relapsom	12 (54%)	11(27%)	23 (37%)
NA	3 (14%)	11 (27%)	14 (22%)
TOTAL	22 (100%)	41 (100%)	63(100%)

X² test: 3,278; df=1; p=0,0702 (p>0,05)

Visok histološki gradusa tumora (slaba diferencijacija ćelija) u korelaciji je sa biološkom agresivnošću tumora i pojavom relapsa. U našoj studiji nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa između dobro diferentovanih i slabo diferentovanih karcinoma jednjaka (tabela 20).

Tabela 20. Relaps bolesti u celoj grupi bolesnika u odnosu na histološki gradus

	Gradus 1	Gradus 2	Gradus 3	NA	TOTAL
Bez relapsa	13 (52%)	7(29%)	2(33,33%)	4(50%)	26 (41%)
Sa relapsom	9 (36%)	10(42%)	2(33,33%)	2(25%)	23 (37%)
NA	3 (12%)	7 (29%)	2(33,33%)	2(25%)	14 (22%)
TOTAL	25 (100%)	24 (100%)	6 (100%)	8(100%)	63(100%)

Fisher Exact Test:p=0,556 (p>0,05)

Analiziranjem pojave relapsa u odnosu na lokalizaciju tumora uočena je statistički značajno češća pojava relapsa kod bolesnika sa karcinomom jednjaka distalne trećine. Od 4 bolesnika kod kojih je karcinom jednjaka registrovan u cervikalnom delu relapsiralo je njih dvoje (50%). Za karcinome srednje trećine (njih 26) taj procenat je iznosio 27%, dok je od 5 bolesnika sa karcinomom jednjaka distalne trećine njih 4 (80%) relapsiralo (tabela 21).

Tabela 21. Relaps bolesti u celoj grupi bolesnika u odnosu na lokalizaciju tumora

	Cervikalni jednjak	Proksimalni torakalni jednjak	Srednji torakalni jednjak	Distalni jednjak	TOTAL
Bez relapsa	0 (0%)	12(43%)	14(53%)	0 (0%)	26 (41%)
Sa relapsom	2 (50%)	10(36%)	7(27%)	4(80%)	23 (37%)
NA	2 (50%)	6 (21%)	5(19%)	1(20%)	14 (22%)
TOTAL	4 (100%)	28 (100%)	26 (100%)	5(100%)	63(100%)

Fisher Exact Test:p=0,03 (p<0,05)

Odgovor na hemio-radioterapiju se smatra najznačajnijim prognostičkim faktorom za ranu pojavu relapsa bolesti. Na tabeli 22. prikazana je pojava relapsa bolesti u zavisnosti od odgovora na kombinovano lečenje. Deset bolesnika imalo je dalju progresiju bolesti nakon hemio-radioterapije. Međutim, u grupi bolesnika koji su ostvarili odgovor na inicijalno lečenje (CR+PR) nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa bolesti. Takođe, nije uočena statistički značajna

razlika u pojavi relapsa u grupi bolesnika kod kojih je postignuta stabilizacija bolesti (SD) u odnosu na one sa odgovorom na hemio-radioterapiju.

Tabela 22. Relaps bolesti u celoj grupi bolesnika prema odgovoru na hemio-radioterapiju

	CR	PR	SD	PD	TOTAL
Bez relapsa	1 (25%)	16(59%)	9(40%)	0 (0%)	26 (41%)
Sa relapsom	1 (25%)	6(22%)	6(27%)	10(100%)	23 (37%)
NA	2 (50%)	5(18%)	7(32%)	0 (0%)	14 (22%)
TOTAL	4 (100%)	27(100%)	22 (100%)	10(100%)	63(100%)

Fisher Exact Test: $p=0,507$ ($p>0,05$)

Kako se pozitivna ekspresija EGFR smatra pokazateljem agresivnosti tumora povezanim sa brzim pojavom lokalnog i udaljenog relapsa korelirali smo ekspresiju ovog markera sa pojavom relapsa u celoj grupi bolesnika. Nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa između EGFR pozitivnih i negativnih bolesnika. Takođe, nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa između EGFR visoko pozitivnih i EGFR slabo pozitivnih bolesnika (tabela 23).

Tabela 23. Relaps bolesti u celoj grupi bolesnika u korelaciji sa EGFR ekspresijom

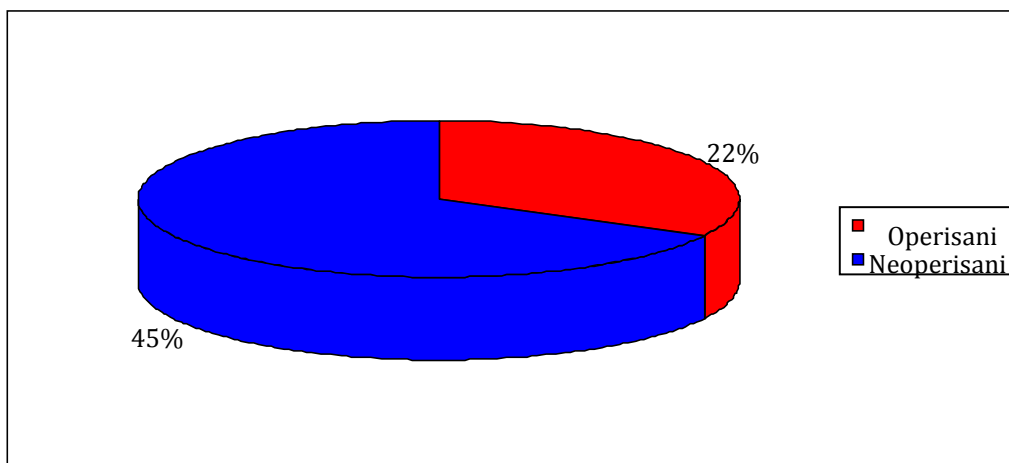
	EGFR 0	EGFR 1	EGFR 2	EGFR 3	NA	TOTAL
Bez relapsa	4 (57%)	6(40%)	1(12,5%)	5 (50%)	10 (44%)	26 (41%)
Sa relapsom	2 (29%)	6(40%)	5(62,5%)	3(30%)	7(30%)	23 (37%)
NA	1 (14%)	3 (20%)	2(25%)	2(20%)	6(26%)	14 (22%)
TOTAL	7(100%)	15(100%)	8(100%)	10(100%)	10(100%)	63(100%)

Fisher Exact Test: $p=0,654$ ($p>0,05$)

X^2 test: 0,133; $df=1$; $p=0,716$ ($p>0,05$)

4.7.2. Lokalna kontrola i relaps bolesti u grupi operisanih bolesnika

Od 23 bolesnika koji su relapsirali, njih 5 (22%) je primalo neoadjuvantnu hemio-radioterapiju a potom operaciju, dok je kod 18 (45%) hemio-radioterapija sprovedena kao definitivna terapija (dijagram 20). Uočena je statistički značajno češća pojava relapsa kod bolesnika koji nisu operisani.



Dijagram 20. Relaps bolesti operisanih i neoperisanih bolesnika

X^2 test: 7,894; df=1; p=0,00496 (p<0,05)

Od 23 operisana bolesnika naše grupe, u srednjem vremenu praćenja od 9 meseci (rang 2-31 mesec), kod 78% bolesnika postignuta je lokalna i regionalna kontrola bolesti, dok je njih 5 (22%) relapsiralo. Najčešće mesto relapsa bile su udaljene metastaze (18%), dok je samo kod jednog bolesnika (4%) verifikovan lokalni recidiv. Metastaze su bile prisutne u regionalnim limfnim žlezdama, jetri, plućima u mozgu. Dva operisana bolesnika su izgubljena iz praćenja i za njih nema podataka o relapsu bolesti.

Od 23 operisana bolesnika inicijalna limfadenopatija je verifikovana kod njih 16 (70%). Na tabeli 24. dat je prikaz pojave relapsa bolesti u grupi operisanih bolesnika u zavisnosti od statusa limfnih žlezda. U našoj studiji uočena je statistički značajno češća pojava relapsa kod N0 bolesnika (tabela 24).

Tabela 24. Relaps bolesti u grupi operisanih bolesnika u zavisnosti od N stadijuma

	N0	N+	TOTAL
Bez relapsa	3 (43%)	13(81,25%)	26 (41%)
Sa relapsom	4 (57%)	1(6,25%)	23 (37%)
NA	0 (0%)	2 (12,5%)	2 (9%)
TOTAL	7 (100%)	16 (100%)	23(100%)

Fisher Exact Test: p=0,0251 (p<0,05)

Histološki gradus je takođe koreliran sa pojavom relapsa u grupi operisanih bolesnika. Statistički značajna razlika u pojavi relapsa između operisanih bolesnika kod kojih je verifikovan slabo diferentovan i dobro diferentovan karcinom jednjaka u našoj grupi nije registrovana (tabela 25).

Tabela 25. Relaps bolesti u grupi operisanih bolesnika u zavisnosti od histološkog gradusa

	Gradus 1	Gradus 2	Gradus 3	NA	TOTAL
Bez relapsa	9 (64%)	5(83%)	0(0%)	2(100%)	16 (70%)
Sa relapsom	4 (29%)	1(17%)	0(0%)	0(0%)	5 (22%)
NA	1 (7%)	0 (0%)	1(100%)	0(0%)	2 (8%)
TOTAL	14 (100%)	6 (100%)	1 (100%)	2(100%)	23(100%)

Fisher Exact Test:p=1 (p>0,05)

Analiziranjem pojave relapsa kod operisanih bolesnika u odnosu na lokalizaciju tumora nije uočena statistički značajna razlika (tabela 26).

Tabela 26. Relaps bolesti u grupi operisanih bolesnika u odnosu lokalizaciju tumora

	Cervikalni jednjak	Proksimalni torakalni jednjak	Srednji torakalni jednjak	TOTAL
Bez relapsa	0 (0%)	7(78%)	9(69%)	16 (70%)
Sa relapsom	0 (0%)	2(22%)	3(23%)	5 (22%)
NA	1 (100%)	0 (0%)	1(8%)	2 (8%)
TOTAL	1 (100%)	9 (100%)	13(100%)	23(100%)

Fisher Exact Test:p=1 (p>0,05)

Tumorski regresioni gradus se smatra značajnim prognostičkim faktorom u smislu preživljavanja i verovatnoće pojave relapsa. Na tabeli 27. analizirana je pojava relapsa u zavisnosti od TRG u grupi operisanih bolesnika. Od 6 bolesnika kod kojih je histopatološki dokazan TRG 1 relapsiralo je njih dvoje (33%), dok kod onih koji su procenjeni kao TRG 2 nije bilo relapsa bolesti u navedenom vremenu praćenja. Od 4 bolesnika kod kojih je histološki verifikovan izostanak odgovora na

hemio-radioterapiju (TRG 4) relaps je zabeležen kod jednog bolesnika (25%). Statistički značajna razlika nije uočena (tabela 27).

Tabela 27. Relaps bolesti u grupi operisanih bolesnika u zavisnosti od TRG

	TRG 1	TRG 2	TRG 3	TRG 4	NA	TOTAL
Bez relapsa	4(67%)	3 (100%)	4(67%)	3(75%)	2(50%)	16 (70%)
Sa relapsom	2 (33%)	0 (0%)	2 (33%)	1(25%)	0 (0%)	5 (22%)
NA	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2(50%)	2 (8%)
TOTAL	6 (100%)	3 (100%)	6 (100%)	4(100%)	4(100%)	23(100%)

Fisher Exact Test:p=0,814 (p>0,05)

U grupi operisanih bolesnika uočena je statistički značajna razlika u pojavi relapsa između EGFR pozitivnih i negativnih bolesnika. Češća pojava relapsa uočena je u grupi EGFR pozitivnih bolesnika. U našoj grupi operisanih bolesnika koji su relapsirali njih dvoje (40%) bilo je EGFR visoko pozitivno, dok za troje operisanih bolesnika koji su relapsirali nivo EGFR nije bio prethodno određen. Ni jedan bolesnik kod koga je ekspresija EGFR bila negativna nije relapsirao, kao i ni jedan bolesnik sa niskim nivoom ekspresije EGFR (EGFR 1) (tabela 28).

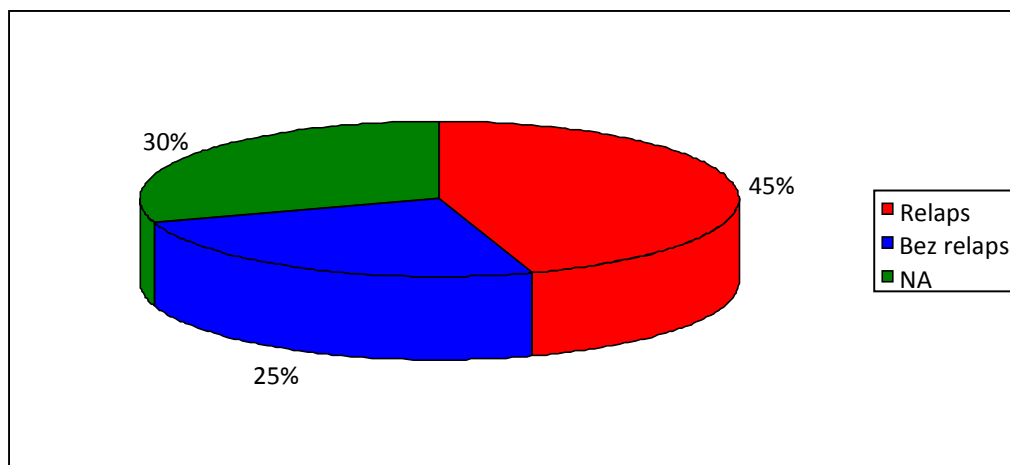
Tabela 28. Relaps bolesti u grupi operisanih bolesnika u korelaciji sa EGFR ekspresijom

	EGFR 0	EGFR 1	EGFR 2	EGFR 3	NA	TOTAL
Bez relapsa	4 (100%)	3(100%)	0 (0%)	2(100%)	7 (58%)	16 (70%)
Sa relapsom	0 (0%)	0 (0%)	2(100%)	0 (0%)	3(25%)	5 (22%)
NA	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2(17%)	2 (8%)
TOTAL	4(100%)	3(100%)	2(100%)	2(100%)	12(100%)	23(100%)

Fisher Exact Test:p=0,036 (p<0,05)

4.7.3. Lokalna kontrola i relaps bolesti u grupi neoperisanih bolesnika

Od 40 bolesnika naše serije koju su lečeni definitivnom hemio-radioterapijom relapsiralo je 18 bolesnika (45%) u srednjem vremenu praćenja od 9 (rang 2-31 mesec). Za četvrtinu ovih bolesnika (25%) definitivnom hemio-radioterapijom postignuta je kontrola bolesti u istom vremenu praćenja. Njih 12 (30%) je izgubljeno iz praćenja i za njih nema sigurnih podataka o relapsu bolesti (dijagram 21).



Dijagram 21. Relaps bolesti u grupi neoperisanih bolesnika

Veliki procenat relapsa (44%) u grupi neoperisanih bolesnika zabeležen je lokalno, a kod 3 bolesnika (17%) registrovana je i regionalna limfadenopatija. Udaljena diseminacija (na jednom ili više organa) je uočena kod 10 neoperisanih bolesnika (56%). Metastaze su bile prisutne u plućima (7 bolesnika), jetri (2 bolesnika) i kostima (3 bolesnika). Kod jednog bolesnika je zabeleženo krvarenje iz tumora, hemoragijska dijateza i hepatorenalni sindrom.

U grupi bolesnika lečenih definitivnom hemio-radioterapijom, T3 stadijum registrovan je kod 17 bolesnika (42,5%), a T4 kod 23 bolesnika (57,5%). Od 17 T3 bolesnika relapsiralo je njih 6 (35%), dok je taj procenat kod T4 bolesnika iznosio 52% (tabela 29). Nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa u zavisnosti od T stadijuma u grupi neoperisanih bolesnika.

Tabela 29. Relaps bolesti u grupi neoperisanih bolesnika u odnosu na T stadijum

	T3	T4	TOTAL
Bez relapsa	5 (30%)	5(22%)	10 (25%)
Sa relapsom	6 (35%)	12(52%)	18 (45%)
NA	6(35%)	6(26%)	12 (30%)
TOTAL	17 (100%)	23 (100%)	40(100%)

X² test: 0,749; df=1; p=0,387 (p>0,05)

U našoj studiji broj neoperisanih bolesnika kod kojih je inicijalno bila prisutna regionalna limfadenopatija iznosio je 25 (62,5%). Nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa bolesti ove grupe u odnosu na one koji su inicijalno bili bez patološke limfadenopatije (njih 15 tj. 37,5%). Naime, u grupi od 25 N+ bolesnika relapsiralo je njih 10 (40%), a u grupi od 15 N0 bolesnika njih 8 (53%) (tabela 30).

Tabela 30. Relaps bolesti u grupi neoperisanih bolesnika u odnosu na N stadijum

	N0	N+	TOTAL
Bez relapsa	4 (27%)	6(24%)	10 (25%)
Sa relapsom	8 (53%)	10(40%)	18 (45%)
NA	3 (20%)	9 (36%)	12 (30%)
TOTAL	15 (100%)	25 (100%)	40(100%)

Fisher Exact Test: p=1 (p>0,05)

Nismo uočili statistički značajnu razliku u pojavi relapsa bolesti kod slabo diferentovanih u odnosu na dobro diferentovane tumore u grupi neoperisanih bolesnika. Od 11 bolesnika sa karcinomom jednjaka histološkog gradusa 1 pojava relapsa zabeležena je kod 5 bolesnika(45%), dok je kod onih sa tumorom gradusa 3 taj procenat iznosio 40% (tabela 31).

Tabela 31. Relaps bolesti u grupi neoperisanih bolesnika u odnosu na histološki gradus tumora

	Gradus 1	Gradus 2	Gradus 3	NA	TOTAL
Bez relapsa	4 (37%)	2(11%)	2(40%)	2(33,33%)	10 (25%)
Sa relapsom	5 (45%)	9(50%)	2(40%)	2(33,33%)	18 (45%)
NA	2 (18%)	7 (39%)	1(20%)	2(33,33%)	12 (30%)
TOTAL	11 (100%)	18(100%)	5 (100%)	6(100%)	40(100%)

Fisher Exact Test:p=0,436 (p>0,05)

Od 3 bolesnika kod kojih je karcinom jednjaka registrovan u cervikalnom delu relapsiralo je njih dvoje (67%). Za karcinome srednje trećine (njih 13) taj procenat je iznosio 31%, dok je od 5 bolesnika sa karcinomom jednjaka distalne

trećine njih 80 (%) relapsiralo. Nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa u zavisnosti od lokalizacije tumora (tabela 32).

Tabela 32. Relaps bolesti u grupi neoperisanih bolesnika u odnosu na lokalizaciju tumora

	Cervikalni jednjak	Proksimalni torakalni jednjak	Srednji torakalni jednjak	Distalni torakalni jednjak	TOTAL
Bez relapsa	0 (0%)	5(26%)	5(38%)	0 (0%)	10 (25%)
Sa relapsom	2 (67%)	8(42%)	2(31%)	4(80%)	18 (45%)
NA	1 (33%)	6 (32%)	4(31%)	1(20%)	12 (30%)
TOTAL	3(100%)	19(100%)	13(100%)	5(100%)	40(100%)

Fisher Exact Test:p=0,228 (p>0,05)

Na tabeli 33. prikazana je pojava relapsa bolesti u zavisnosti od odgovora na kombinovano lečenje u grupi neoperisanih bolesnika. Nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa između bolesnika koji su na hemio-radioterapiju kompletno odgovorili u odnosu na one sa parcijalnom regresijom i stabilizacijom bolesti u grupi neoperisanih bolesnika (tabela 33).

Tabela 33. Relaps bolesti u grupi neoperisanih bolesnika prema odgovoru na hemio-radioterapiju

	CR	PR	SD	PD	TOTAL
Bez relapsa	1(25%)	5(42%)	4 (28%)	0(0%)	10 (25%)
Sa relapsom	1 (25%)	2 (16%)	5(36%)	10(100%)	18 (45%)
NA	2 (50%)	5 (42%)	5(36%)	0 (0%)	12 (30%)
TOTAL	4(100%)	12(100%)	14(100%)	10(100%)	40(100%)

Fisher Exact Test:p=0,357 (p>0,05)

Od 10 bolesnika koji su progredirali u toku samog tretmana, njih troje (30%) imalo je lokalnu progresiju bolesti, dok je većina (70%) razvila udaljeni relaps (jetra jedan bolesnik, pluća 5 bolesnika i kosti 2 bolesnika). Jedan bolesnik je usled lokalne progresije bolesti iskrvario. Neoperisani bolesnici koji su ostvarili

kompletan i parcijalni odgovor kao i stabilizaciju bolesti u najvećem procentu (80%) su razvili lokalni relaps bolesti.

U ovoj studiji korelirali smo nivo ekspresije EGFR sa pojavom relapsa i u grupi neoperisanih bolesnika. Nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa između EGFR pozitivnih i negativnih bolesnika. Takođe, nije uočena statistički značajna razlika između EGFR visoko i slabo pozitivnih (tabela 34).

Tabela 34. Relaps bolesti u grupi neoperisanih bolesnika u korelaciji sa nivoom ekspresije EGFR

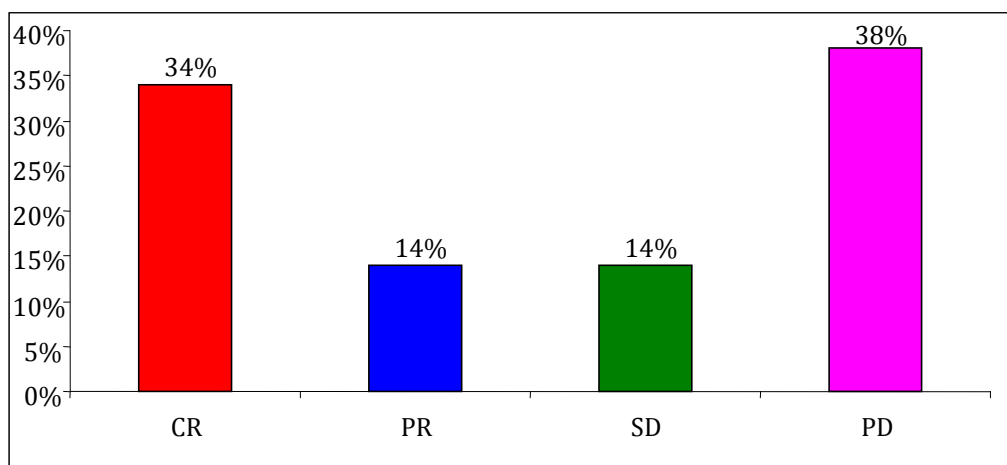
	EGFR 0	EGFR 1	EGFR 2	EGFR 3	NA	TOTAL
Bez relapsa	0 (0%)	3(25%)	1 (17%)	3(37,5%)	3 (28%)	10 (25%)
Sa relapsom	2(67%)	6 (50%)	3(50%)	3 (37,5%)	4(36%)	18 (45%)
NA	1 (33%)	3(25%)	2 (33%)	2 (25%)	4(36%)	12 (30%)
TOTAL	3(100%)	12(100%)	6(100%)	8(100%)	11(100%)	40(100%)

Fisher Exact Test:p=0,533 (p>0,05)

Fisher Exact Test:p=1 (p>0,05)

4.8. PREŽIVLJAVANJE

Na poslednjoj kliničkoj kontroli od 63 bolesnika uključena u istraživanje, njih 21 (34%) imalo je kompletnu remisiju bolesti. Njih devetoro (14%) ostvarilo je parcijalnu regresiju, 9 bolesnika (14%) imalo je stabilizaciju bolesti, a 24 (38%) je progrediralo (dijagram 22).



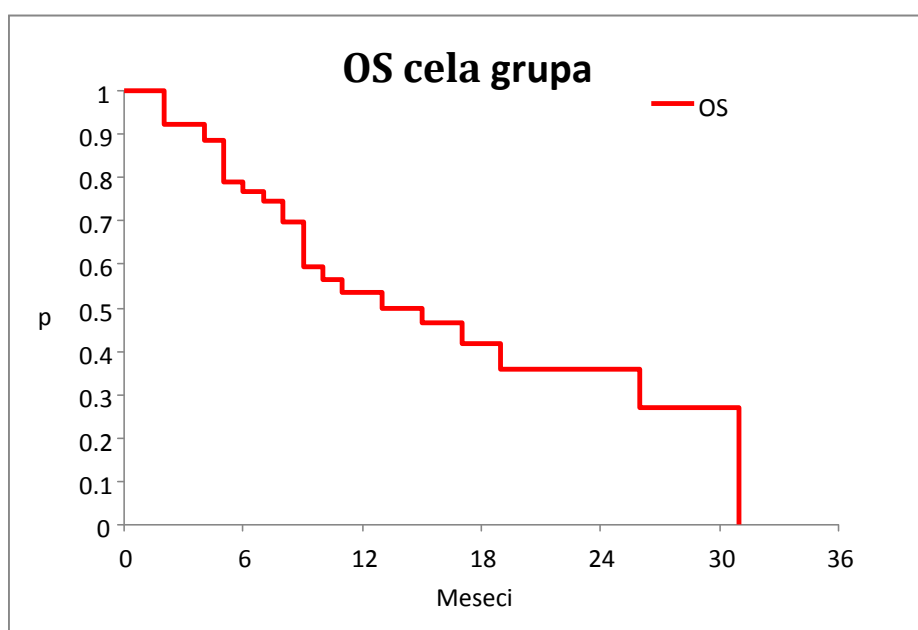
Dijagram 22. Stanje na poslednjoj kontroli u celoj grupi bolesnika

Prosečno vreme praćenja u našoj studiji iznosilo je 9 meseci pri čemu je minimum praćenja iznosio dva meseca, a maksimum 31 mesec.

Do kraja studije umrlo je 28 bolesnika (44%). Kao uzrok smrti navodi se osnovno oboljenje ili progresija bolesti kod 23 bolesnika (82%), CVI kod jednog bolesnika (4%), dok su 4 bolesnika (14%) umrla u postoperativnom toku. 35 bolesnika naše studije (56%) izgubljeno je iz praćenja.

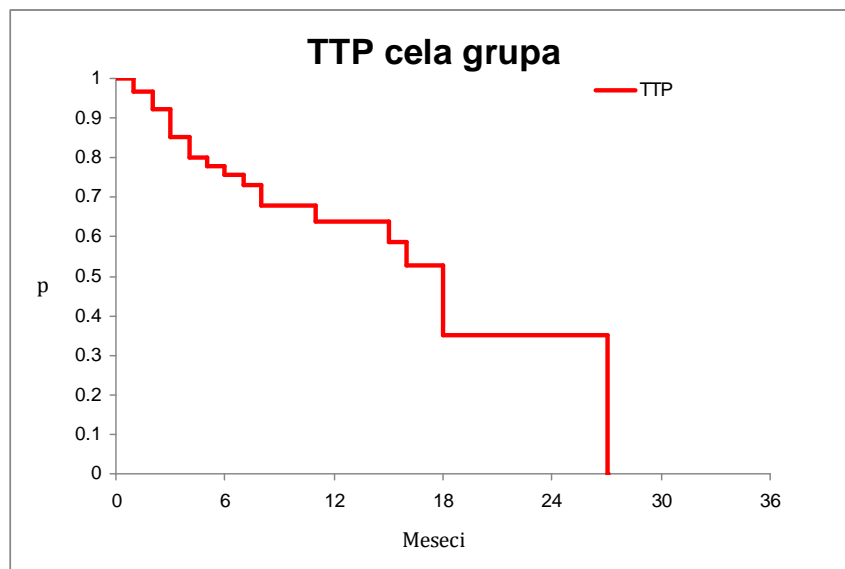
Kod 5 bolesnika naše grupe (8%) verifikovali smo duplex karcinom u istom vremenu praćenja. Jedan bolesnik je imao karcinom kože, dva bolesnika karcinom želuca, jedan karcinom bubrega i jedan bolesnik karcinom larinksa.

Ukupno jednogodišnje preživljavanje (overall survival-OS) u celoj grupi bolesnika iznosilo je 53%, a dvogodišnje oko 36% (grafik 1).



Grafik 1. Ukupno preživljavanje u celoj grupi bolesnika

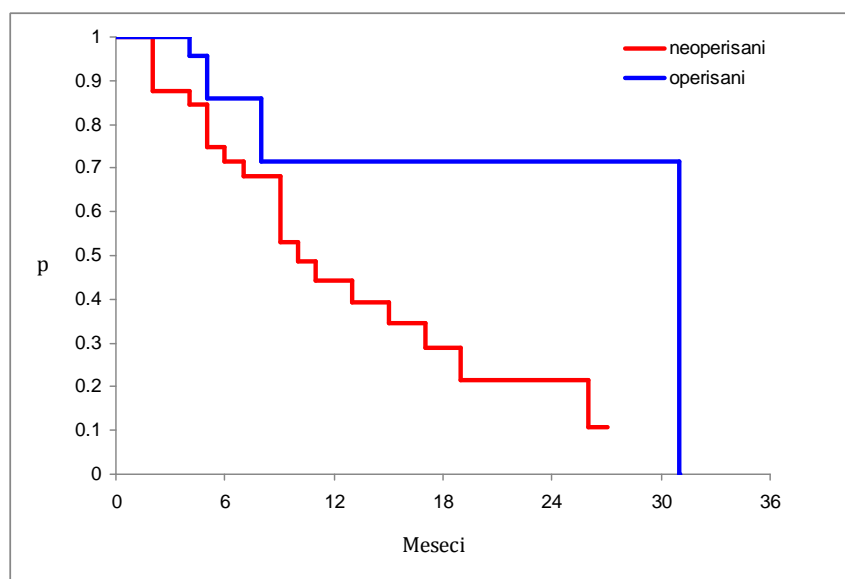
Srednje vreme do progresije (time to progression-TTP) u celoj grupi bolesnika iznosilo je 8 meseci (rang 1-27 meseci). Jednogodišnje vreme do progresije imalo je 64% bolesnika, a dvogodišnje čak 35% (grafik 2).



Grafik 2. Vreme do progresije u celoj grupi bolesnika

4.8.1. Analiza ukupnog preživljavanja (overall survival-OS)

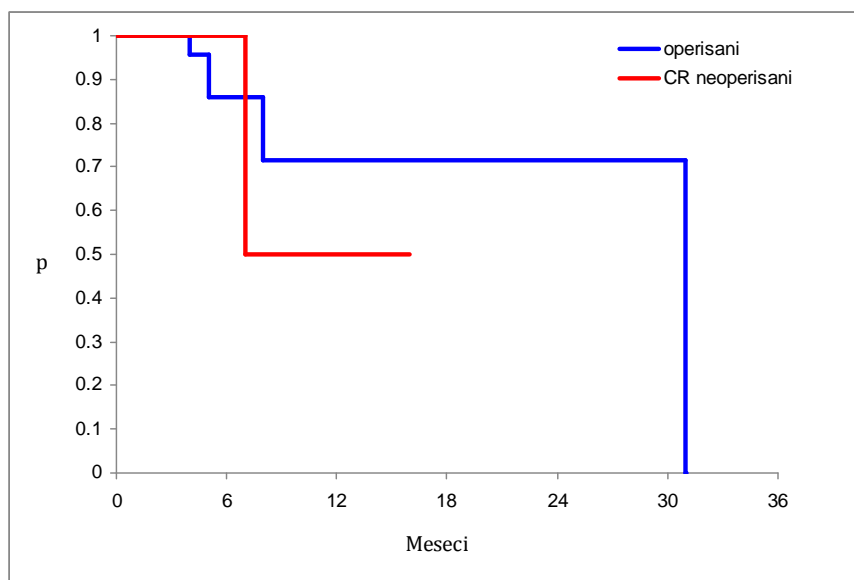
Na osnovu dosadašnjih istraživanja dodavanje hirurgije kombinovanoj hemio-radioterapiji poboljšava ukupno preživljavanje ovih bolesnika. U našoj studiji analizirali smo ukupno preživljavanje u grupi operisanih i neoperisanih bolesnika. U grupi operisanih bolesnika ukupno jednogodišnje preživljavanje iznosilo je 72%, a u grupi neoperisanih 44%. Uočeno je statistički značajno bolje preživljavanje u grupi operisanih bolesnika (grafik 3).



Grafik 3. Ukupno preživljavanje u zavisnosti od operacije

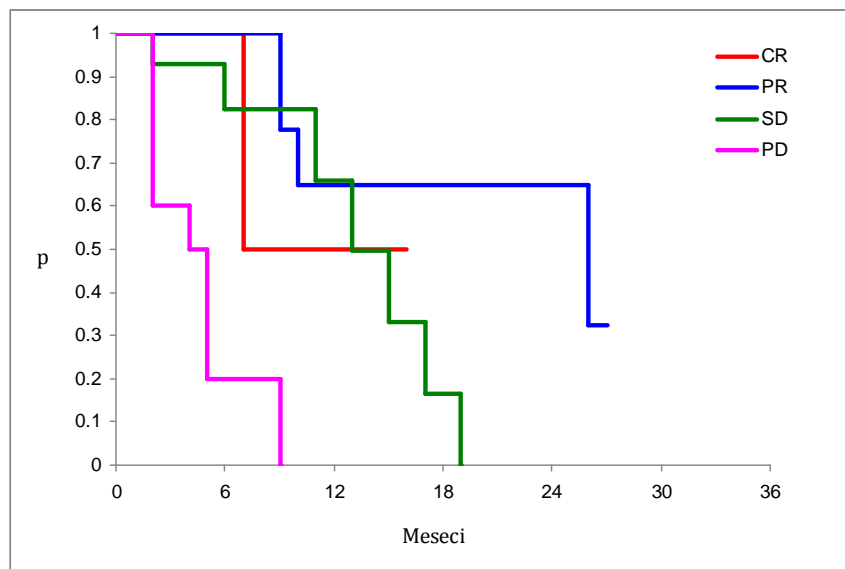
Log rank test, $p=0,02$ ($p<0,05$)

Međutim, izdvajanjem grupe koja je na definitivnu kombinovanu hemio-radioterapiju ostvarila kompletnu remisiju (CR) i poređenjem sa grupom operisanih bolesnika u smislu ukupnog preživljavanja nije uočena statistički značajna razlika (grafik 4).



Grafik 4. Ukupno preživljavanje CR grupe neoperisanih bolesnika i grupe operisanih bolesnika
Log rank test, $p=0,518$ ($p>0,05$)

Na grafiku 5. prikazano je ukupno preživljavanje naših neoperisanih bolesnika u zavisnosti od kliničkog odgovora na hemio-radioterapiju. Analizom dobijenih rezultata nije uočena statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju bolesnika koji su kompletno odgovorili na inicijalnu terapiju u odnosu na one sa parcijalnim odgovorom ili stabilizacijom bolesti. Međutim, dok za bolesnike sa kompletnom remisijom jednogodišnje preživljavanje iznosi preko 50%, kod onih koji su imali brzu progresiju bolesti nije bilo preživelih posle 9 meseci. Jasno je da su bolesnici kod kojih je zabeležena progresija bolesti na hemio-radioterapiju imali statistički značajno kraće ukupno vreme preživljavanja u odnosu na one sa odgovorom na inicijalnu terapiju.

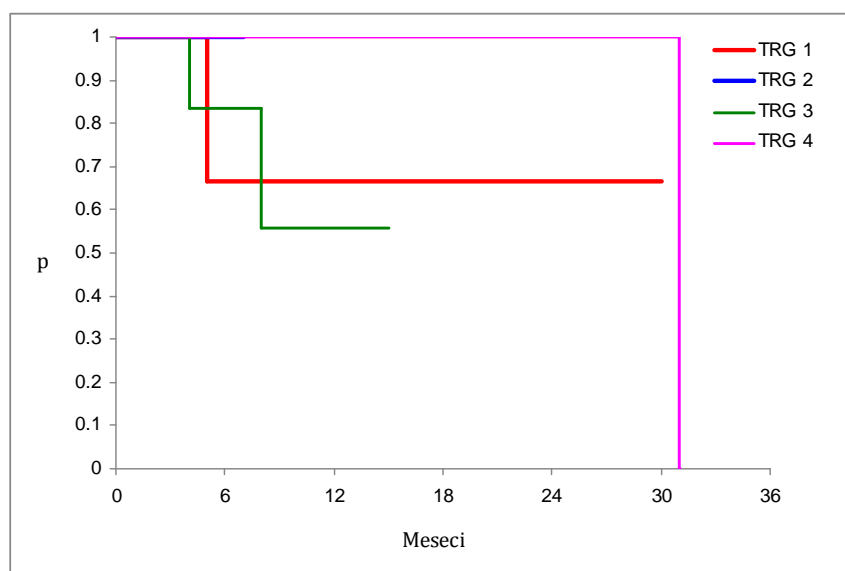


Grafik 5. Ukupno preživljavanje u zavisnosti od odgovora na terapiju neoperisanih bolesnika

Log rank test, $p=0,0083$ ($p<0,05$)

4.8.1.1. Ukupno preživljavanje u odnosu na TRG

Analiziranjem ukupnog preživljavanja u odnosu na tumorski regresioni gradus operisanih bolesnika, nije uočena statistički značajna razlika. Prosečno vreme preživljavanja bolesnika koji su ostvarili TRG 1 iznosilo je 15 meseci, kao i onih sa TRG 4 (grafik 6).



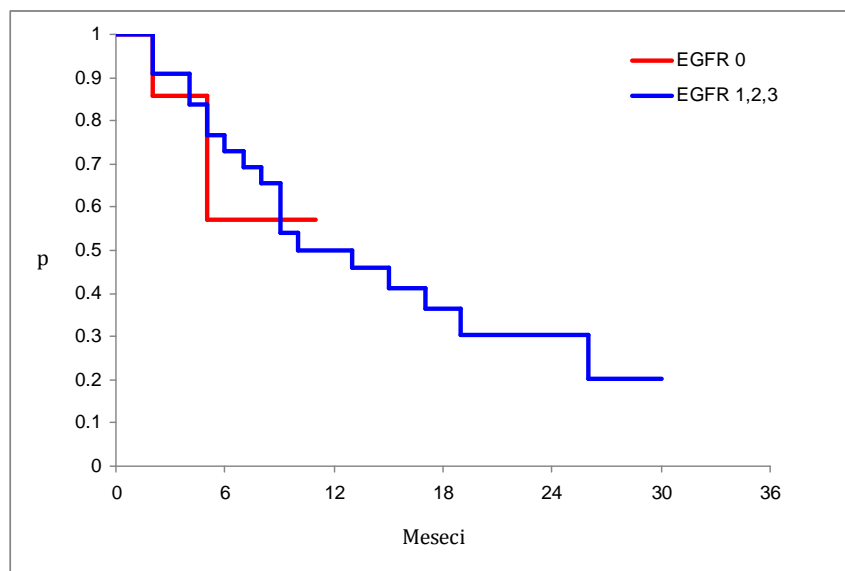
Grafik 6. Ukupno preživljavanje u zavisnosti od TRG u grupi operisanih bolesnika

Log rank test, $p=0.529$ ($p>0,05$)

4.8.1.2. Ukupno preživljavanje u odnosu na EGFR ekspresiju

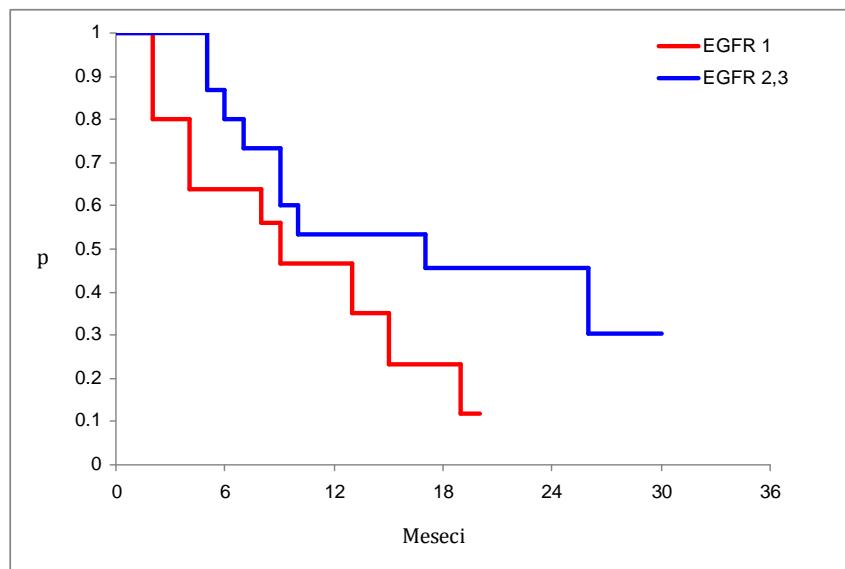
Analiziranjem ekspresije receptora za epidermalni faktor rasta i ukupnog preživljavanja, u našoj studiji, nismo uočili razliku u ukupnom preživljavanju u zavisnosti od EGFR pozitivne i negativne ekspresije. EGFR negativni bolesnici imali su jednogodišnje preživljavanje u oko 57% slučajeva, a EGFR pozitivni u oko 50% (grafik 7).

Takođe, nije uočena statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju u zavisnosti od nivoa ekspresije EGFR markera. Oni bolesnici kod kojih je EGFR marker bio slabo pozitivan imali su jednogodišnje ukupno preživljavanje od 47%, a oni sa visoko pozitivnim EGFR markerom oko 50% (grafik 8).



Grafik 7. Ukupno preživljavanje u zavisnosti od ekspresije EGFR u celoj grupi bolesnika

Log rank test, $p=0,953$ ($p>0,05$)

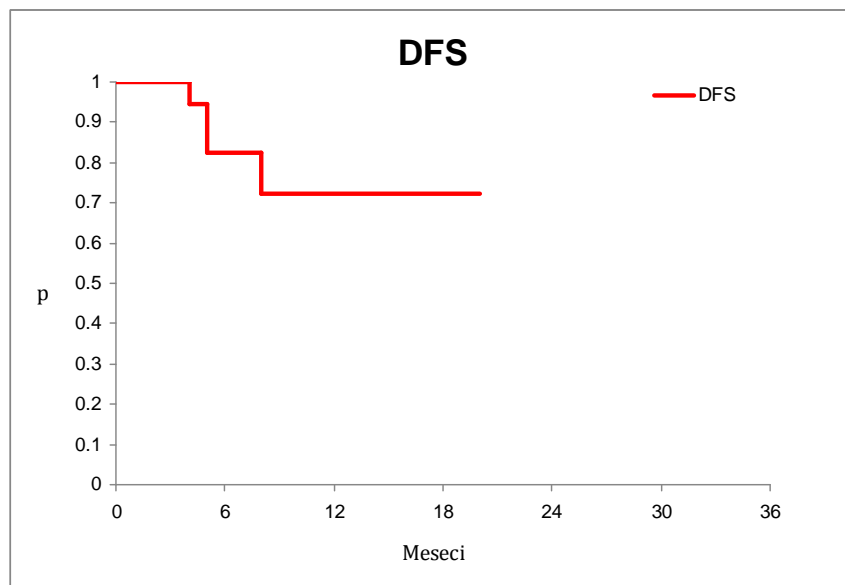


Grafik 8. Ukupno preživljavanje u zavisnosti od nivoa EGFR ekspresije u celoj grupi bolesnika
Log rank test, $p=0,08$ ($p>0,05$)

4.8.2. Analiza preživljavanja bez znakova bolesti (disease free survival-DFS)

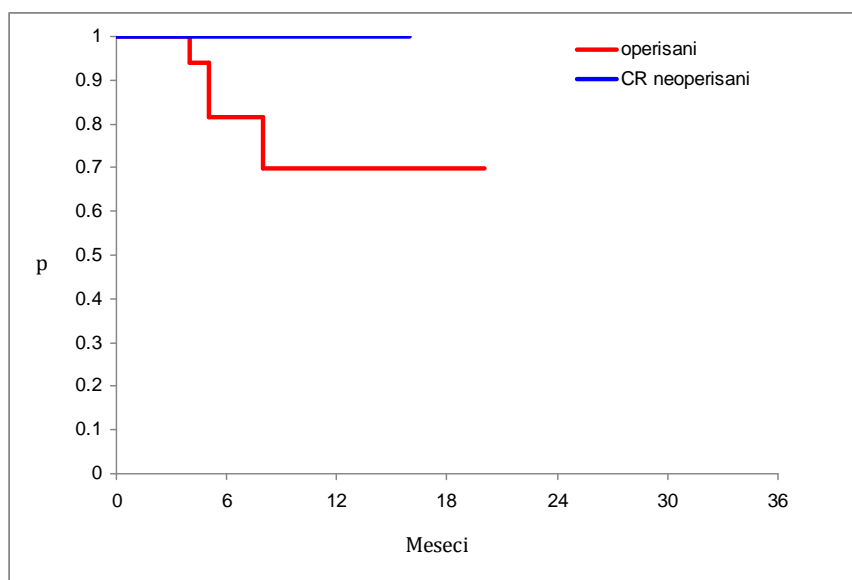
Bolesnici koji su ostvarili kompletan odgovor na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju, kao i operisani bolesnici smatraju se onima bez znakova bolesti. Za ovu grupu bolesnika analizirano je preživljavanje bez znakova bolesti.

Preživljavanje bez znakova bolesti (disease free survival-DFS) u grupi bolesnika sa kompletnom remisijom iznosilo je 8 meseci u proseku (rang 3-20 meseci). Jednogodišnje preživljavanje bez znakova bolesti u ovoj grupi bolesnika iznosilo je oko 72% (grafik 9).



Grafik 9. Preživljavanje bez znakova bolesti

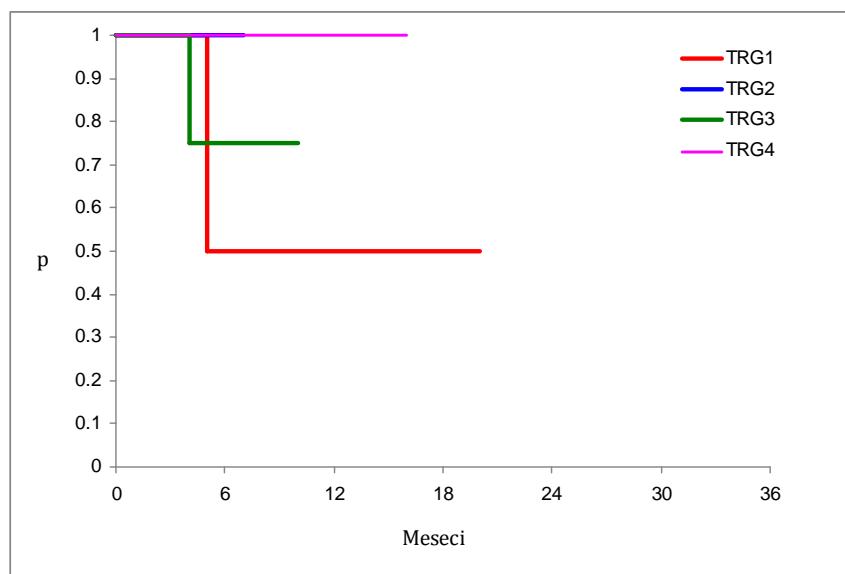
Analiziranjem preživljavanja bez znakova bolesti kod operisanih bolesnika u odnosu na one koji su ostvarili kompletnu kliničku remisiju na hemio-radioterapiju ali nisu operisani, nije uočena statistički značajna razlika (grafik 10).



Grafik 10. Preživljavanje bez znakova bolesti u grupi CR neoperisanih bolesnika i grupi operisanih bolesnika
Log rank test, $p=0,557$ ($p>0,05$)

4.8.2.1. Preživljavanje bez znakova bolesti u odnosu na TRG

Na osnovu dosadašnjih istraživanja, smatra se da bolesnici kod kojih je ostvarena patohistološka kompletna remisija imaju bolje preživljavanje bez znakova bolesti. U našoj studiji ova pretpostavka nije potvrđena. Nismo uočili statistički značajnu razliku u preživljavanju bez znakova bolesti operisanih bolesnika u odnosu na tumorski regresioni gradus (grafik 11).

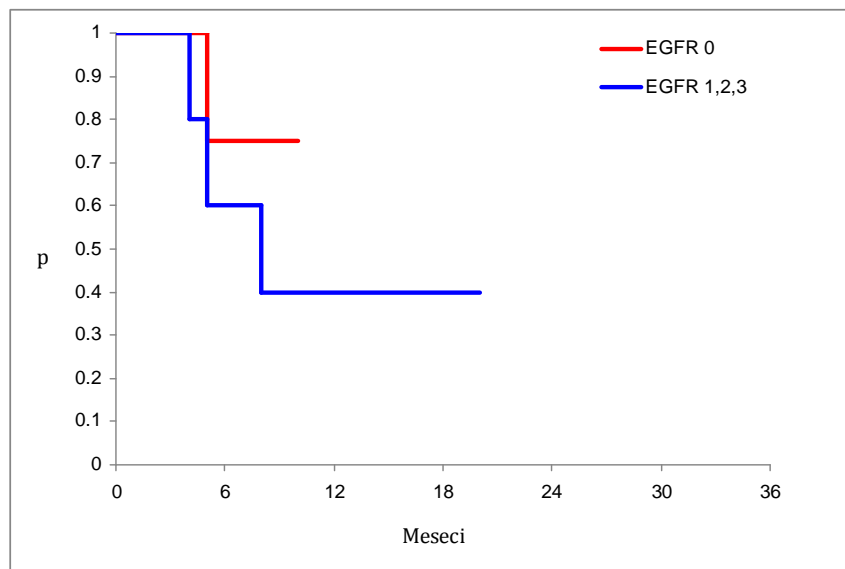


Grafik 11. Preživljavanje bez znakova bolesti u grupi operisanih bolesnika u odnosu na TRG

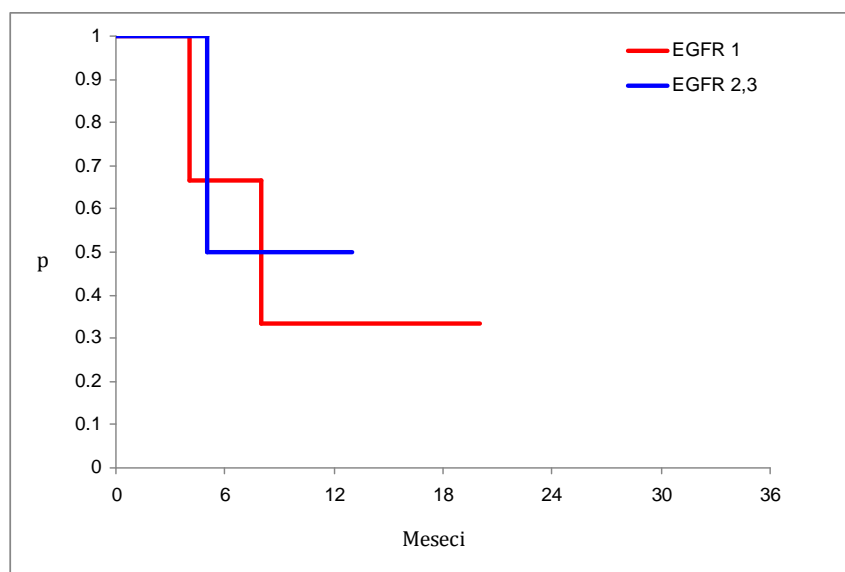
Log rank test, $p=0,451$ ($p>0,05$)

4.8.2.2. Preživljavanje bez znakova bolesti u odnosu na EGFR ekspresiju

Pozitivna ekspresija EGFR markera smatra se pokazateljem biološke agresivnosti tumora i povezana je sa brзом progresijom i pojavom lokalnog i udaljenog relapsa. U našoj studiji nije uočena statistički značajna razlika u preživljavanju bez znakova bolesti između EGFR pozitivnih i EGFR negativnih bolesnika (grafik 12). Takođe, nije uočena statistički značajna razlika u preživljavanju bez znakova bolesti između EGFR visoko i slabo pozitivnih bolesnika (grafik 13).



Grafik 12. Preživljavanje bez znakova bolesti u zavisnosti od ekspresije EGFR
Log rank test, $p=0,377$ ($p>0,05$)

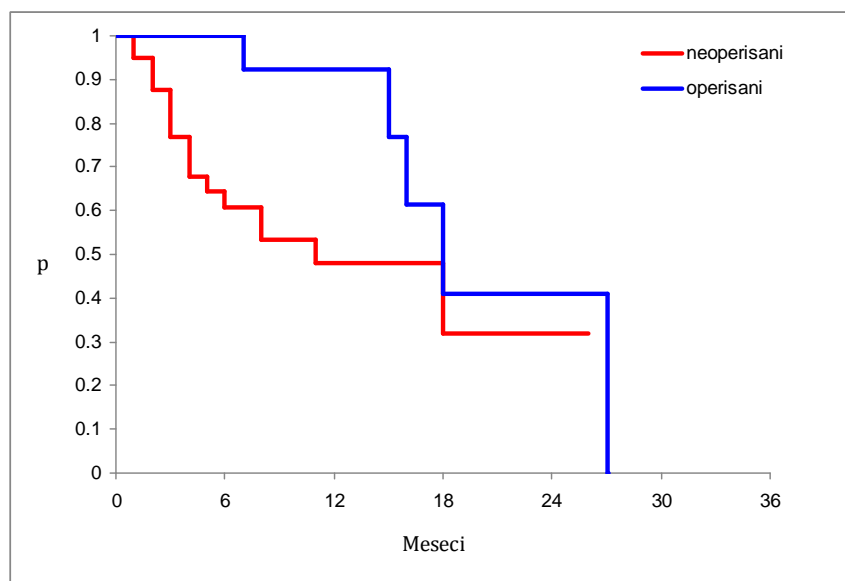


Grafik 13. Preživljavanje bez znakova bolesti u zavisnosti od nivoa EGFR ekspresije
Log rank test, $p=0,782$ ($p>0,05$)

4.8.3. Analiza vremena do progresije bolesti (time to progression-TTP)

Hirurška resekcija nakon neoadjuvantne hemio-radioterapije poboljšava lokalnu kontrolu bolesti i smanjuje rizik od lokalnog relapsa. U našoj studiji uočili

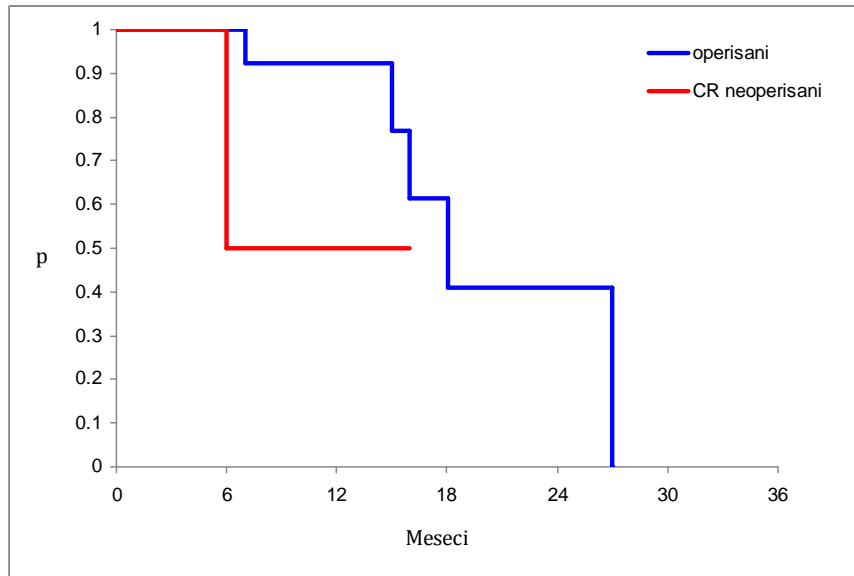
smo statistički značajno duže vreme do progresije u grupi operisanih bolesnika u odnosu na neoperisane bolesnike. U grupi operisanih jednogodišnje vreme do progresije imalo je preko 90% bolesnika, dok je u neoperisanoj grupi bolesnika taj procenat iznosio 48%. Nakon dve godine bez relapsa bolesti je bilo oko 40% operisanih bolesnika, dok u grupi neoperisanih nije bilo bolesnika bez relapsa bolesti nakon dve godine (grafik 14).



Grafik 14. Vreme do progresije operisanih i neoperisanih bolesnika

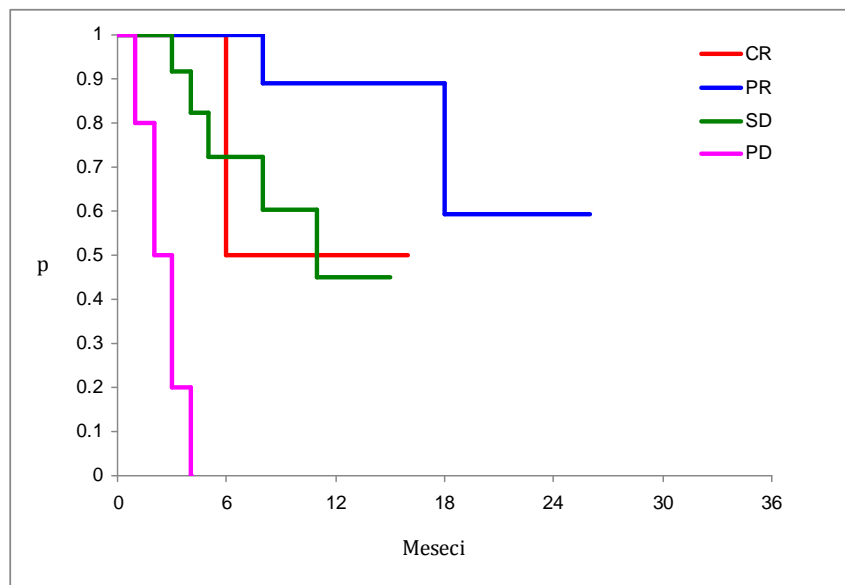
Log rank test, $p=0,015$ ($p<0,05$)

Međutim, kada smo izdvojili grupu neoperisanih bolesnika kod kojih je postignuta kompletna klinička remisija na hemio-radioterapiju i uporedili je sa grupom operisanih bolesnika, nije uočena statistički značajna razlika u vremenu do progresije između ove dve grupe (grafik 15).



Grafik 15. Vreme do progresije operisanih i CR neoperisanih bolesnika
Log rank test, $p=0,437$ ($p>0,05$)

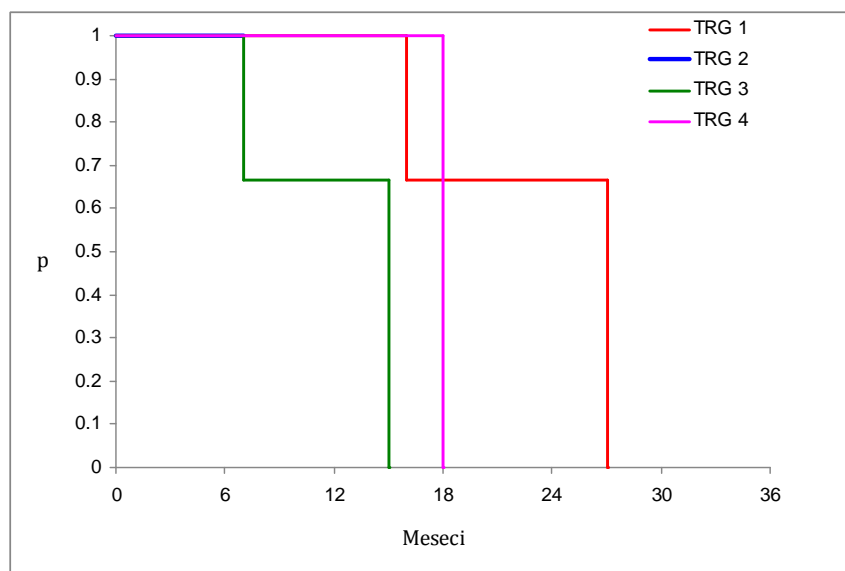
U grupi neoperisanih bolesnika, jasno je da postoji statistički značajna razlika u vremenu do progresije u zavisnosti od odgovora na hemio-radioterapiju. Deset bolesnika naše grupe imalo je progresiju bolesti odmah nakon sprovedene hemio-radioterapije. Međutim, između bolesnika sa potpunim odgovorom, parcijalnim odgovorom i stabilizacijom bolesti nema statistički značajne razlike u vremenu do progresije bolesti. Jednogodišnje vreme do progresije za ove grupe iznosi oko 50% (grafik 16).



Grafik 16. Vreme do progresije u grupi neoperisanih bolesnika u zavisnosti od odgovora na hemio-radioterapiju
Log rank test, $p=0,003$ ($p<0,05$)

4.8.3.1. Vreme do progresije u odnosu na TRG

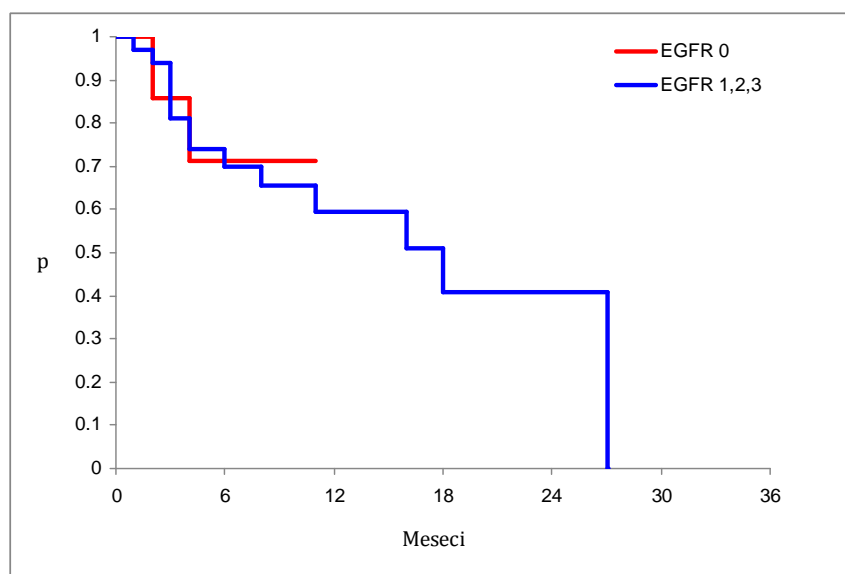
Tumorski regresioni gradus nije korelisao sa vremenom do progresije u grupi operisanih bolesnika. Bolesnici kod kojih je patohistološki verifikovan TRG 1 imali su srednje vreme do progresije od 14,5 meseci. Oni, pak kod kojih je TRG klasifikovan kao 4 imali su srednje vreme do progresije od 11,5 meseci (grafik 17).



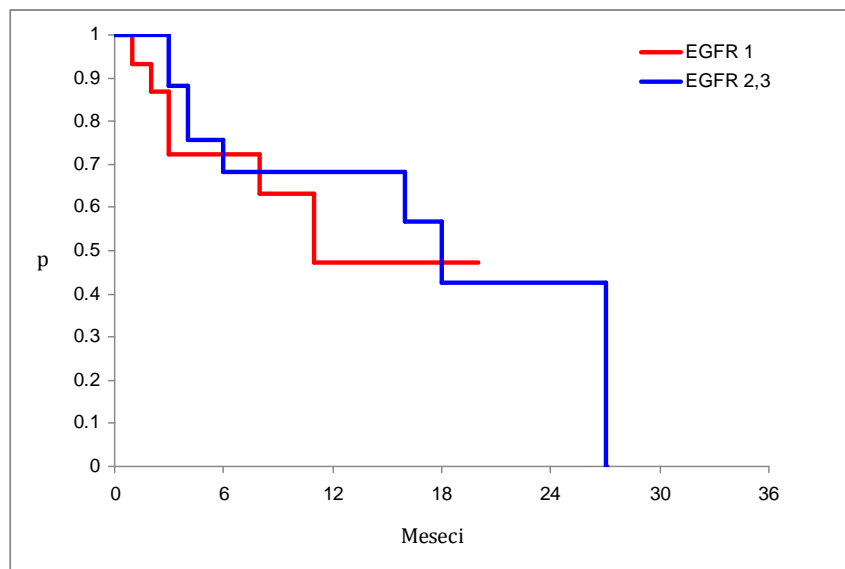
Grafik 17. Vreme do progresije u grupi operisanih bolesnika u odnosu na TRG
Log rank test, $p=1,11$ ($p>0,05$)

4.8.3.2. Vreme do progresije u odnosu na EGFR ekspresiju

Analizom vremena do progresije u odnosu na EGFR ekspresiju, nije uočena statistički značajna razlika u grupi bolesnika sa negativnom EGFR ekspresijom u odnosu na one sa pozitivnom ekspresijom ovog markera. I u jednoj i u drugoj grupi jednogodišnje vreme do progresije je zabeleženo u oko 50% slučajeva. (grafik 18). Takođe, nije uočena statistički značajna razlika u vremenu do progresije između EGFR slabo i visoko pozitivnih bolesnika (grafik 19).



Grafik 18. Vreme do progresije u zavisnosti od ekspresije EGFR
Log rank test, $p=0,843$ ($p>0,05$)



**Grafik 19. Vreme do progresije
u zavisnosti od nivoa EGFR ekspresije**
Log rank test, $p=0,544$ ($p>0,05$)

Iako se ekspresija EGFR smatra pokazateljem agresivne bolesti sklone brzom progresiji, u našoj studiji ovo stanovište nismo potvrdili.

5. DISKUSIJA

Za postizanje zadovoljavajućih rezultata u lečenju karcinoma jednjaka neophodan je pravilan izbor pacijenata u odnosu na odgovarajuće modalitete lečenja, a da bi se predložio standard mora se uzeti u obzir očekivana dužina života, opšte stanje pacijenta kao i osobine tumora. Analizirajući ukupno preživljavanje, pojavu relapsa bolesti i kvalitet života, rezultati dosadašnjih istraživanja pokazuju kompleksnost i heterogenost. Individualni odgovor karcinoma jednjaka na kombinovano lečenje danas se tumači molekularnom heterogenošću tumora, te je pažnja usmerena na identifikaciju pojedinih molekularnih markera koji bi ukazivali na potencijalno dobar odgovor na terapiju i bolje preživljavanje.

Karcinom jednjaka se 2,5 puta češće javlja kod muškaraca nego kod žena. U okviru naše prospektivne, multicentrične, nerandomizovane studije faze II koja je sprovedena na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije i Institutu za bolesti digestivnog sistema (I hirurška Univerzitetska klinika) u periodu od 2006. do 2010. godine ispitivanjem je obuhvaćeno 63 bolesnika sa histološki dokazanim lokoregionalno neresektabilnim (T3-4, N0-1) skvamocelularnim karcinomom jednjaka. Od 63 bolesnika, muškaraca je bilo 55 (87%), a žena samo 8 (13%). Svim bolesnicima ordinirana je konkomitantna hemio-radioterapija.

U studiji Schneider i saradnika koja je uključila 85 bolesnika sa karcinomom jednjaka lečenih hemio-radioterapijom, bilo je 69 muškaraca (81%) i 16 žena (19%) (136). Takeno u svoju studiju 2001. godine uključuje 31 muškarca i tri žene (169), a Denham 67 muškaraca (73%) i 25 žena (27%) (131). Može se zaključiti da je distribucija bolesnika prema polu u našoj studiji u korelaciji sa drugim istraživanjima.

Karcinom jednjaka je bolest starije životne dobi i prosečna starost u momentu postavljanja dijagnoze se kreće između 60 i 70 godina. Prosečna životna dob bolesnika naše grupe iznosila je 56 godina, pri čemu je najmlađi bolesnik imao 34, a najstariji 74 godine. Najveći broj bolesnika (65%) pripadao je populaciji ispod

60 godina starosti. Bolesnika ispod 50 godina starosti bilo je 19%, a starosti preko 70 godina 2%.

U studiji Crosby i saradnika koja je uključila 90 bolesnika sa inoperabilnim karcinomom jednjaka lečenih definitivnom hemio-radioterapijom (5FU/CDDP+RT 50Gy), ispod 50 godina starosti bilo je 7% bolesnika, od 50-65 njih 44 (49%), od 66-75 njih 33 (36%), a preko 75 godina 8% bolesnika (185).

Minsky i saradnici su 2002. godine realizovali studiju u kojoj su poredili visoke doze radioterapije (64,8Gy) i standardne doze (50,4Gy) u okviru kombinovane hemio-radioterapije karcinoma jednjaka. Uključili su 218 bolesnika, prosečne starosti 64 godine (rang 37-81 godine) (106).

Na osnovu podataka iz literature može se zaključiti da se prosečna starost naših bolesnika uklapa u intervale uzrasta bolesnika iz drugih studija. Takođe, postoji korelacija u broju pacijenata ispod 50 i preko 70 godina starosti.

Opšte stanje bolesnika procenjivali smo na osnovu Karnofsky indeksa (KI %) koji je iznosio između 70% i 100%. Većina bolesnika (87%) naše studije je bila dobrog opšteg stanja (KI 80%-100%) , dok je 2 bolesnika (3%) imalo Karnofsky indeks 70%.

Herskovic i saradnici su u svojoj studiji od 121 bolesnika sa karcinomom jednjaka lečenih radikalnom radioterapijom i kombinovanom hemio-radioterapijom zabeležili 54 bolesnika odličnog opšteg stanja (90-100%), 59 onih koji su imali simptome i znake bolesti (KI 70-80%), ali i 8 bolesnika teškog opšteg stanja (KI 50-60%) (81).

Bosset i saradnici su, pak, u svoju studiju koja je poredila neoadjuvantnu hemio-radioterapiju i hirurgiju sa hirurgijom kao monoterapijom uključili 282 bolesnika od kojih je 85% bilo odličnog opšteg stanja (KI 90-100%). KI 80% imalo je oko 3% bolesnika, dok oni lošijeg opšteg stanja nisu bili kandidati za agresivne tretmane (110).

I pored uznapredovale bolesti, bolesnici naše studije su bili dobrog opšteg stanja, što odgovara i rezultatima drugih autora. Imajući u vidu intenzivnu terapiju

koja nosi sa sobom rizik od potencijalno ozbiljnih komplikacija, neophodna je adekvatna selekcija bolesnika za pojedine terapijske modalitete.

Većina bolesnika sa karcinomom jednjaka ima prisutnu disfagiju u momentu postavljanja dijagnoze. U našoj studiji disfagija gradusa 1 (otežano gutanje čvrste hrane) registrovana je kod 38 bolesnika (60%). Meku hranu moglo je da guta 15 bolesnika (24%), a samo tečnost 6 bolesnika (10%). Afagija je registrovana kod 4 naša bolesnika (6%).

Disfagiju najčešće prati i gubitak na telesnoj težini koji inverzno koreliše sa prognozom bolesti, obzirom da dodatno narušava opšte stanje bolesnika. U našoj grupi bez gubitka na telesnoj težini bilo je 8 bolesnika (13%). Gubitak do 5 kilograma je registrovan kod 16 bolesnika (25%), od 5-10 kg kod 22 (35%), a preko 10 kg kod 17 bolesnika (27%).

Bedenne i saradnici su 2007. godine sproveli veliku studiju na 444 bolesnika sa karcinomom jednjaka koja je poredila hemio-radioterapiju i hirurgiju sa definitivnom hemio-radioterapijom. Bez disfagije bilo je oko 10% bolesnika. Čvrstu hranu je moglo da guta 45% bolesnika, meku hranu 35%, a samo tečnost 14%. Potpunu afagiju imalo je 2% bolesnika. Gubitak na telesnoj težini preko 10 kg imalo je 20% bolesnika, a ispod 10 kg skoro 80% (117).

Još jedna Francuska serija Crehange i saradnika koja je poredila protrahovanu i split-course hemio-radioterapiju u grupi od 451 bolesnika sa karcinomom jednjaka, beleži disfagiju gradusa 1 kod 6% bolesnika, gradusa 2 kod 42%, gradusa 3 kod 36%, a afagija je zabeležena u 2% bolesnika. Gubitak na telesnoj težini preko 10 kg imalo je 22% bolesnika (186).

Rezultati naše studije u nekoliko se razlikuju od rezultata Francuskih autora. U našoj seriji zabeležen je nešto viši procenat bolesnika sa afagijom, kao i onih sa disfagijom gradusa 1. Procenat bolesnika sa disfagijom gradusa 2 je u korelaciji sa drugim autorima.

U najvećem broju naših slučajeva (45%) tumor je bio lokalizovan u gornjoj trećini torakalnog jednjaka. U srednjoj torakalnoj trećini jednjaka tumor je

verifikovan kod 26 bolesnika (41%), dok su cervikalna i distalna torakalna lokalizacija bile znatno ređe.

Burmeister i saradnici u velikoj Australijskoj studiji na 294 bolesnika sa karcinomom jednjaka lečenih kombinovano, zabeležili su karcinom cervikalnog jednjaka kod 42 bolesnika, torakalnog jednjaka kod 108 bolesnika, a distalne trećine kod 144 bolesnika (187). Herskovic i Bosset, takođe, potvrđuju najčešću srednju torakalnu lokalizaciju karcinoma jednjaka (81, 110), što je u korelaciji i sa našim rezultatima.

Svi bolesnici naše studije imali su lokalno uznapredovali karcinom jednjaka u T3 ili T4 stadijumu. T3 karcinom jednjaka zabeležen je kod 30 (48%), a T4 kod 33 bolesnika (52%). Broj bolesnika koji su inicijalno imali prisutnu regionalnu limfadenopatiju iznosio je 41 (65%), dok kod 22 bolesnika (35%) limfadenopatija nije zabeležena.

Na osnovu TNM klasifikacije, najveći broj bolesnika naše studije (71%) imao je lokalno uznapredovali karcinom jednjaka (stadijum III). Kod 13 bolesnika (21%) bolest se smatrala lokalizovanom (stadijum II) mada su svi ovi bolesnici imali T3 karcinom jednjaka. Pet bolesnika (8%) naše grupe bilo je u kliničkom stadijumu IV, odnosno imalo je solitarne metastaze. Metastatske promene su kod svih bolesnika bile u plućnom parenhimu.

Većina dosadašnjih studija uglavnom uključuje bolesnike sa lokalizovanim karcinomom jednjaka (T1,T2,N0). Međutim, Nemačka grupa, na čelu sa Stahl-om i saradnicima, sprovela je studiju na 172 bolesnika sa lokalno uznapredovalim skvamocelularnim karcinomom jednjaka (T3-4, N0-1, M0) (116), kao i Japanski autori koji uključuju bolesnike sa T4 karcinomom jednjaka (44, 45, 188). U studiji Chirieac i saradnika u IV kliničkom stadijumu bilo je čak 6% bolesnika, iako je najveći broj (58%) bio u II kliničkom stadijumu (123). Takođe, Eloubeidi i saradnici sproveli su veliku studiju na 10 441 bolesnika sa karcinomom jednjaka u periodu od 1988-1996. godine. 25% bolesnika (2625) bilo je T1 stadijuma bolesti, a T4 njih 1423 (13,7%) (132).

Na osnovu literaturnih podataka može se zaključiti da kriterijumi uključivanja bolesnika u studije na osnovu kliničkog stadijuma variraju. Naši rezultati su najviše u korelaciji sa rezultatima Nemačkih i Japanskih autora.

Histopatološka potvrda maligne bolesti postavlja se nakon biopsije tumorske promene. Svi bolesnici uključeni u našu studiju imali su histopatološki verifikovan skvamocelularni karcinom jednjaka. Na osnovu WHO sistema gradiranja, najveći broj bolesnika (40%) imao je dobro diferentovanu formu karcinoma jednjaka, a srednje diferentovanu formu čak 38% bolesnika. Slabo diferentovan tumor (gradus 3) zabeležen u 9% bolesnika. Za 8 bolesnika (13%) histološki gradus tumora nije mogao biti precizno određen.

Naši rezultati su u korelaciji sa rezultatima Bonnetain-a i saradnika kod kojih je dobro i srednje diferentovan tumor verifikovan kod 78% bolesnika, a slabo diferentovan kod 22% bolesnika (189), ali nisu u korelaciji sa studijom Kim i saradnika kod kojih je najveći broj bolesnika imao srednje i slabo diferentovanu formu bolesti (134). Eloubeidi, takođe, beleži najveći procenat srednje i slabo diferentovanih karcinoma (preko 50%) u svojoj studiji na preko 10 000 bolesnika (132).

Skvamocelularni karcinomi pokazuju visok nivo ekspresije receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR). Ovaj visok nivo ekspresije dovodi do autonomnog ćelijskog rasta, veće dubine tumorske invazije, vaskularne invazije, angiogeneze i brze pojave regionalnih i udaljenih metastaza. S toga se smatra da su bolesnici koji imaju visok nivo ekspresije EGFR u povećanom riziku za pojavu lokalnog i udaljenog relapsa bolesti.

Od 63 bolesnika uključenih u studiju, u preterapijskom biopsijskom uzorku karcinoma jednjaka, kod 40 bolesnika (64%) analiziran je nivo ekspresije receptora za epidermalni faktor rasta standardnom imunohistohemijskom metodom. Kod ostalih 23 bolesnika (36%) nivo ekspresije ovog markera nije mogao biti određen usled nedostupnosti ili nepotpunosti originalnog histološkog materijala.

Od 40 analiziranih preterapijskih histoloških uzoraka skvamocelularnog karcinoma jednjaka, pozitivna ekspresija EGFR je zabeležena u 33 slučaja (83%). Od ovog broja slabu pozitivnost ispoljilo je 38%, srednju njih 20%, a visoku pozitivnost jedna trećina, tj. 25% uzoraka. U 17% ispitivanih uzoraka nije registrovan povišen nivo ekspresije EGF receptora.

Analiziranjem ekspresije EGF receptora i inicijalnog stadijuma bolesti nije uočena statistički značajna razlika u ekspresiji EGFR za T3 i T4 stadijum u našoj grupi. Takođe, nije potvrđena statistička značajnost u ekspresiji EGFR ni za N status kao ni za stepen diferentovanosti tumora.

Ispitivanja EGF receptora kod karcinoma jednjaka, ali i pluća, pankreasa, kolorektuma, dojke i želuca počela još osamdesetih godina prošlog veka, (Ozawa i saradnici). Prvi rezultati su pokazali da je visok nivo ekspresije EGFR u korelaciji sa brzim tumorskim rastom, brзом pojavom regionalnih i udaljenih metastaza i lošijim preživljavanjem (151). U studijama koje su usledile, Itakura i saradnici na 217 bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka pokazali su povećanu EGFR ekspresiju u 71% uzoraka primarnog tumora i 88% pozitivnih limfnih nodusa. Međutim, analiziranjem odnosa nivoa EGFR sa karakteristikama samog tumora (njegova veličina, nodalni status i histološki gradus) nije uočena statistički značajna razlika između EGFR pozitivnih i negativnih uzoraka. Ipak, zabeležen je veći broj slabo diferentovanih karcinoma u EGFR pozitivnoj grupi, kao i nešto veći broj uznapredovalih tumora i dublja invazija zida (152).

Mukaida i saradnici 1990. godine uočili su pozitivnu EGFR ekspresiju u preko 90% uzoraka skvamocelularnog karcinoma jednjaka koja je korelisala sa slabijom diferencijacijom samog tumora (153).

Delektorskaya i saradnici 2009. objavljuju rad u kojem navode pozitivnu EGFR ekspresiju u uzorku skvamocelularnog karcinoma jednjaka u 86% slučajeva: srednje izraženu kod 40% i visoko izraženu kod 46% uzoraka. Međutim, analiziranjem ekspresije EGF receptora i stepena diferentovanosti tumora, N stadijuma, T stadijuma i dubine invazije zida nije uočena statistički značajna razlika između EGFR pozitivne i negativne grupe. Statistički značajna razlika je

uočena samo u pojavi vaskularne invazije koja je bila češća u EGFR pozitivnoj grupi (190).

Na osnovu navedenih rezultata brojnih značajnih studija, može se zaključiti da su naši rezultati u potpunosti u korelaciji sa rezultatima drugih autora.

Kod svih bolesnika uključenih u studiju sprovedena je neoadjuvantna hemio-radioterapija koja podrazumeva zračnu terapiju tumorskim dozama ranga 45-50,4 Gy u 24-28 frakcija uz konkomitantnu hemioterapiju Cisplatinom i infuzijom visokih doza 5-fluorouracila/leukovorina.

U našoj studiji, u toku zračnog tretmana, jednom nedeljno evidentirane su i skorirane akutne komplikacije na organima od rizika na osnovu NCI-CTC kriterijuma, dok su kasne komplikacije procenjivane u toku redovnih kontrola po završetku lečenja.

Najveći broj naših bolesnika, njih 60 (95%), su imali najmanje jednu vrstu toksičnosti (hematološku ili nehematološku). Toksičnost se u proseku ispoljavala u 4 nedelji tretmana nakon aplikovanih TD~30 Gy i 2-3 ciklusa hemiotrapije.

Dermatitis kao nehematološku komplikaciju je imalo 7 bolesnika (11%), bol prilikom gutanja 12 (19%), disfagiju 41 (65%), mučninu 12 bolesnika (19%), stomatitis 5 (8%), a povraćanje je registrovano kod 2 bolesnika (3%). Dermatitis je u najvećem procentu (8%) bio gradusa 1 (hiperemija kože), dok dermatitis gradusa 4 (nekroza) u našoj studiji nije zabeležen. Disfagija je najčešće (38%) bila gradusa 1, ali je i ovako slabo izražena, u 17% slučajeva bila praćena bolom. Disfagiju gradusa 3 imalo je 6% naših bolesnika, a dvoje je razvilo kompletnu afagiju usled edema i mukozitisa jednaka i ordinirana je intenzivna simptomatsko-supportivna terapija. Mučnina prilikom primene hemio-radioterapije je bila uglavnom gradusa 1-2 i adekvatno se kupirala simptomatskom terapijom. Jedan bolesnik imao je dijareju gradusa 2, a jedan je razvio stomatitis gradusa 2 kao posledicu primene 5FU. U našoj grupi kardiotoksičnost je bila značajna i zabeležena je u 6 slučajeva (10%). U dva slučaja (3%) zabeležena je kardiotoksičnost gradusa 3 i u jednom slučaju kardiotoksičnost gradusa 2. Ovi bolesnici bili su pod intezivnom kardiološkom opservacijom i terapijom, a

bolesnicima kod kojih je kardiotoksičnost bila gradusa 2 i 3 prekinuta je dalja hemioterapija.

Hematotoksičnosti je najčešća komplikacija primene hemioterapije i uključuje leukocitopeniju, trombocitopeniju i anemiju. Kao hematološka toksičnost zabeležena je leukopenija kod 37 bolesnika (58%), neutropenija kod 29 (45%), anemija kod 40 (63%) i trombopenija kod 12 bolesnika (19%). Leukopenija gradusa 3 zabeležena je u 22% slučajeva, a gradusa 4 u 11% slučajeva. Febrilnu neutropeniju razvilo je 8 bolesnika (13%). U našoj studiji, takođe, zabeležena je i anemija gradusa 3 kod 2 bolesnika i anemija gradusa 4 kod jednog bolesnika, a jedan bolesnik je razvio i trombopeniju gradusa 3.

Od ostalih komplikacija zabeležene su tromboza dubokih vena, malaksalost i elektrolitni disbalans u vidu hipokalijemije.

Svi bolesnici naše studije završili su kompletan kurs radioterapije, ali je njih 40 (63%) od 63 uključenih u studiju primilo sva četiri ciklusa konkomitantne hemioterapije. Ostalih 23 (37%) je prekinulo hemioterapiju zbog ispoljene toksičnosti i loše subjektivne tolerancije. Kod 10 bolesnika (16%) hemioterapija je prekinuta nakon 3 ciklusa, a kod 13 (21%) nakon 2 ciklusa hemioterapije. Kao uzrok prekida hemioterapije zabeležena je kardiotoksičnost gradusa 2 i 3, hematotoksičnost gradusa 3 i 4, loše opšte stanje, krvavljenje iz tumora, alergijska reakcija na hemioterapiju, tromboza dubokih vena i infekcija respiratornih puteva. Osmo bolesnika (13%) imalo je privremeno odlaganje hemioterapije, a 23 bolesnika (37%) pauzu u zračnom tretmanu zbog ispoljene toksičnosti.

U postoperativnom toku umrlo je 4 bolesnika (1%). Kao uzrok smrti u postoperativnom toku zabeleženi su curenje anastomoze, krvarenje, respiratorna i srčana insuficijencija.

Mnogi autori, takođe, navode značajnu toksičnost primene hemio-radioterapije. Elisabeth Heath i saradnici sa Johns Hopkins Univerziteta, Baltimor, USA, u svoju studiju uključili su 42 bolesnika sa karcinomom jednjaka kojima je ordinirana 5FU/CDDP hemioterapija konkomitantno sa TD 44Gy transkutane radioterapije. Anemija gradusa 3 zabeležena je kod 7% bolesnika, neutropenija

gradusa 3 kod 21%, a gradusa 4 kod 2% bolesnika, trombocitopenija gradusa 3 kod 7% bolesnika, a gradusa 4 kod 14%. Ezofagitis gradusa 3 zabeležen je kod 5% bolesnika, a gradusa 4 kod 10% bolesnika. Mučninu gradusa 3 imalo je čak 17% bolesnika, a povraćanje gradusa 3 oko 2% bolesnika (191).

Urba i saradnici daju, pak, sledeće podatke o toksičnosti primene preoperativne hemio-radioterapije (5FU/CDDP+45Gy) u svojoj studiji na 100 bolesnika sa karcinomom jednjaka: leukopenija gradusa 3 i 4 zabeležena je u 78% slučajeva, trombopenija gradusa 3 i 4 u 31% slučajeva, febrilna neutropenija kod 39%, a disfagija i ezofagitis kod 63% bolesnika koji su zahtevali i primenu parenteralne ishrane (111).

Tepper i saradnici 2008. godine objavljuju svoje rezultate u okviru CALGB 9781 trajala trimodalne terapije karcinoma jednjaka. Leukopenija gradusa 3 zabeležena je u 15% slučajeva, a gradusa 4 u 12%. Ezofagitis gradusa 3 imalo je 27% bolesnika, a gradusa 4 njih 15%. Kardiotoksičnost gradusa 3 zabeležena je kod 8% bolesnika, a infekcija kod 30% (114).

U studiji Lj. Jelić i saradnika svi bolesnici uključeni u studiju su završili zračnu terapiju. Od 46 bolesnika, njih 24 (52%) je primilo sva četiri ciklusa hemioterapije, dok je 22 (48%) prekinulo hemioterapiju zbog toksičnosti (10 bolesnika nakon 2 ciklusa, a 12 nakon 3 ciklusa hemioterapije). Najučestalija je bila hematološka toksičnost (23 bolesnika) i obično se javljala između treće i pete nedelje lečenja. Ova akutna toksičnost je uglavnom bila niskog gradusa (1 do 2). Leukopenija gradusa 3 uočena je kod 7, a neutropenija gradusa 3 kod 6 bolesnika. Pet bolesnika je imalo leukopeniju gradusa 4, a 8 bolesnika neutropeniju gradusa 4. Nehematološka toksičnost uključuje dermatitis, disfagiju, mučninu, povraćanje, dijareju i kardiotoksičnost, i uočena je kod 32 bolesnika. U najvećem broju slučajeva (24 bolesnika) toksičnost je bila niskog gradusa (1-2), izuzev 3 bolesnika kod kojih je registrovana kardiotoksičnost gradusa 3, i 5 bolesnika kod kojih se razvila disfagija gradusa 3-4. U ovoj grupi, nije bilo smrtnog ishoda vezanog za sam tretman (192).

Na osnovu literaturnih podataka, postoperativne komplikacije pogađaju 26% do 41% operisanih bolesnika. Najčešće se navode pulmonalne (pneumonija, atelektaza, edem pluća, plućna embolija), kardiovaskularne komplikacije (infarkt miokarda, aritmija, perikarditis), curenje anastomoze (5%), infekcija, krvarenje, tromboza dubokih vena. Ipak, i pored visokog postoperativnog morbiditeta, mortalitet se kreće oko 3% (65,66,73,75,76 189).

Iako rezultati pojedinih serija variraju, može se zaključiti da je toksičnost kombinovanog lečenja značajna. Naši rezultati se uklapaju u ovo stanovište.

Klinička procena odgovora na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju vršena je nakon pet do šest nedelja od završetka lečenja na osnovu nalaza CT ili MRI toraksa i gornjeg abdomena, kontrolne ezofagoskopije i ezofagografije, kompletne krvne slike i serumske biohemije i kliničkog pregleda.

U našoj studiji od 63 bolesnika, kompletan klinički odgovor zabeležen je kod 4 bolesnika (6%). Parcijalnu regresiju ostvarilo je 27 bolesnika (43%), a stabilizaciju bolesti 22 naša bolesnika (35%). Deset bolesnika (16%) imalo je progresiju bolesti na primenjenu hemio-radioterapiju.

U studiji Di Fiore i saradnika koja je uključila 116 bolesnika lečenih standardnom hemio-radioterapijom, kompletan klinički odgovor je zabeležen kod 74% bolesnika (133). S druge strane, Kim i saradnici beleže kompletan klinički odgovor na hemio-radioterapiju kod 28% bolesnika, parcijalnu regresiju kod 58%, stabilizaciju kod 6%, a progresiju bolesti kod 4% bolesnika od 108 uključenih u studiju (134).

U studiji Ikeda i saradnika response rate iznosio je 76%. Kompletna klinička regresija je uočena kod 9 bolesnika, parcijalna regresija kod 19, stabilizacija bolesti kod 3 i progresija kod 6 bolesnika, od 37 uključenih u studiju (45).

Lj. Jelić i saradnici beleže kompletan odgovor (CR) kod 3 bolesnika (7%). Parcijalna regresija (PR) uočena je kod 24 bolesnika (52%), stabilizacija bolesti kod 13 (28%), dok je kod 6 bolesnika (13%) verifikovana progresija bolesti (192).

Rezultati naše studije najviše odgovaraju rezultatima Ikeda i saradnika što se tiče odgovora na hemio-radioterapiju, dok su značajno lošiji u odnosu na studiju Di Fiore i Kim-a.

Analiziranjem kliničkog odgovora na hemio-radioterapiju u zavisnosti od T stadijuma bolesti, nije uočena statistički značajna razlika u našoj grupi. Takođe, nije uočena statistički značajna razlika u odgovoru na neoadjuvantnu terapiju bolesnika kod kojih je inicijalno dokazana limfadenopatija u odnosu na one bez limfadenopatije. Shodno tome, u našoj studiji nije uočena statistički značajna razlika u kliničkom odgovoru na hemio-radioterapiju u zavisnosti od kliničkog stadijuma bolesti. Ni jedan bolesnik naše studije u kliničkom stadijumu IIA nije ostvario kompletnu remisiju, za razliku od 9% bolesnika u III kliničkom stadijumu kod kojih je ostvaren kompletan klinički odgovor. Bolesnici inicijalno u IV stadijumu nisu imali kompletnih ni parcijalnih remisija, dok je 60% postiglo stabilizaciju bolesti.

U zavisnosti od histološkog gradusa analiziran je klinički odgovor na inicijalnu hemio-radioterapiju, ali nije uočena statistički značajna razlika u našoj studiji.

Morita u svojoj studiji koja je uključila 686 bolesnika sa karcinomom jednjaka lečenih neoadjuvantnom hemio-radioterapijom i hirurģijom ili samo hirurģijom analizira preterapijske karakteristike bolesnika i samog tumora kao i njihov uticaj na odgovor na terapiju, pojavu relapsa bolesti i preživljavanje. Ove preterapijske karakteristike uključuju godine starosti, lokalizaciju tumora, T stadijum, N stadijum, stepen diferentovanosti tumora i resektabilnost. U Cox proporcionalnom hazard modelu, odgovor na hemio-radioterapiju bio je bolji u grupi T1/T2 karcinoma jednjaka (Odds ratio=0,48; 95% CI; 0,27-0,84), dok za ostale parametre ova razlika nije potvrđena (188).

Na osnovu dosadašnjih studija, pozitivna EGFR ekspresija inverzno koreliše sa odgovorom na hemio-radioterapiju. U našoj studiji sva tri bolesnika koja su postigla kompletnu kliničku remisiju bila su EGFR pozitivna (7,5%), a od 16 bolesnika koji su ostvarili parcijalnu regresiju, 12 bolesnika (30%) je bilo EGFR

pozitivno. Od 13 bolesnika kod kojih je ostvarena stabilizacija bolesti, 12 bolesnika (30%) bilo EGFR pozitivno, dok je progresija bolesti verifikovana kod 6 (15%) EGFR pozitivnih i 2 (5%) EGFR negativna bolesnika. Statistički značajna razlika nije uočena.

Iako je ispitivanje asocijacije nivoa ekspresije EGFR i odgovora karcinoma jednaka na hemio i radioterapiju počelo je tek devedesetih godina prošlog veka, na osnovu sprovedenih studija nema dovoljno dokaza da je povećana ekspresija EGFR povezana sa lošijim odgovorom na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju. Hickey i saradnici sprovedeli su studiju 1994. godine na 14 bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednaka lečenih hemio-radioterapijom. Osam od 9 bolesnika koji su odgovorili na ovu terapiju bilo je EGFR negativno (154). Gibson 2003. godine u svojoj studiji na 92 bolesnika nije dokazao da je povećana ekspresija EGFR korelisala sa lošijim odgovorom na hemio-radioterapiju (155). Ni Miyazono i saradnici (156), kao ni Akamatsu i saradnici u svojoj studiji (157) nisu uočili uticaj preterapijskog nivoa ekspresije EGFR i odgovora na hemio-radioterapiju kod bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednaka.

Ni u jednoj analiziranoj studiji, izuzev Moritine, nije uočena korelacija kliničkog odgovora sa T i N stadijumom bolesti, kao ni sa ekspresijom receptora za epidermalni faktor rasta što je u korelaciji sa našim rezultatima.

Po završetku hemio-radioterapije, pacijenti prevedeni u operabilni stadijum bolesti, kao i oni u dobrom opštem stanju podvrgnuti su hirurškoj resekciji jednaka. Pre hirurške resekcije vrši se procena operabilnosti i podobnosti svakog pacijenta za operaciju. Bolesnici koji nisu podobni za operaciju nakon hemio-radioterapije nastavljaju lečenje hemioterapijom i/ili simptomatskom i suportivnom terapijom.

Od 63 bolesnika uključenih u studiju operisano je njih 23 (37%). Ostalih 40 (63%) nije operisano: 26 bolesnika (65%) je bilo narušenog opšteg stanja, četvoro (10%) je odbilo operaciju, dok je 10 bolesnika (25%) imalo dokazanu progresiju bolesti na inicijalnu hemio-radioterapiju.

U grupi operisanih bolesnika prosečna starost iznosila je 57 (rang 34-74). Operisane su 3 žene (13%) i 20 muškaraca (87%), i svi su bili inicijalno dobrog opšteg stanja (KI \geq 80). Dva bolesnika (9%) imala su skoro potpunu afagiju, dok je disfagija gradusa 1 zabeležena kod 16 bolesnika (69%). Gubitak na telesnoj težini preko 10 kilograma imalo je 6 operisanih bolesnika (26%). T3 stadijum bolesti imalo je 13 bolesnika (56%), a T4 njih 10 (44%). Regionalna limfadenopatija registrovana je kod 16 bolesnika (69%). U kliničkom stadijumu IIA bilo je 4 bolesnika (17%), u stadijumu III njih 17 (74%), a u metastatskom dva bolesnika (9%). Kod oba bolesnika metastaze su bile u plućnom parenhimu. Slabo diferentovan tumor imao je jedan bolesnik (5%), a dobro diferentovan njih 14 (61%). Najveći broj bolesnika (56%) imao je tumor lokalizovan u srednjoj trećini torakalnog jednjaka.

Skoro dve trećine operisanih bolesnika (73%) imalo je subtotalnu ezofagektomiju sa ezofagogastro anastomozom (sec. Iwor-Lewis). Jedan bolesnik je imao totalnu ezofagektomiju, a kod jednog je pored parcijalne ezofagektomije u istom aktu učinjena i resekcija pluća. Svi bolesnici operisani su sa R0 resekcijom.

Od 46 bolesnika sa lokalno uznapredovalim skvamocelularnim karcinomom jednjaka, u studiji Lj. Jelić i saradnika, operisano je 12 (26%). Kod svih bolesnika postignuta je R0 resekcija (192).

U studiji Berger-a i saradnika koja je sprovedena od 1994. do 2002. godine nad 179 bolesnika sa karcinomom jednjaka koji su lečeni trimodalno, preoperativne karakteristike bolesnika bile su sledeće: operisano je 157 muškaraca i 22 žene, prosečne starosti 60 godina (rang 24-87 godina). Najveći procenat bolesnika bio je u IIA kliničkom stadijumu (55%), dok je čak 4 bolesnika bilo u IV kliničkom stadijumu. Patološka limfadenopatija registrovana je kod 37 bolesnika (20%). Tumor je u najvećem procentu bio lokalizovan u distalnoj trećini. 145 bolesnika je operisano sa R0 resekcijom, a 34 je imalo mikroskopsku rezidualnu bolest (R1)(193).

U Anconinoj grupi bilo je 9 žena i 38 muškaraca, prosečne starosti 58 godina. Tumor je u najvećem procentu bio lokalizovan u gornjoj trećini, a

najzastupljeniji je bio IIA klinički stadijum. 9 bolesnika je operisano sa R1-2 resekcijom, dok je R0 resekcija mogla biti sprovedena kod 38 bolesnika (122).

Čak i u slučaju ranih stadijuma karcinoma jednjaka kod kojih se sprovodi kurativna ezofagektomija, Kahn daje podatak o 20% R+ resekcija (53).

Kliničke karakteristike bolesnika različitih serija variraju, ali se na osnovu naših i literaturnih podataka može zaključiti da je u našoj studiji bilo zastupljeno više bolesnika sa uznapredovalom bolešću (III klinički stadijum). Takođe, u našoj seriji postignuta je bolja stopa R0 resekcija.

Histopatološka eksploracija resekovanog uzorka podrazumeva ypTNM klasifikaciju, rezidualni status i regresioni status (TRG) na osnovu Mandard kriterijuma.

Kao što je već navedeno, ni jedan operisani bolesnik naše studije nije imao rezidualnu bolest po operaciji.

Tumorski regresioni gradus 1 (odsustvo tumorskih ćelija u resekovanom uzorku, samo fibroza) zabeležen je kod 6 od 23 operisana bolesnika (26%), TRG 2 (retke kancerske ćelije, predominantno fibroza) kod 3 bolesnika (13%), a TRG 3 (predominacija kancerskih ćelija nad fibrozom) kod 6 bolesnika (26%). TRG 4 (odsustvo odgovora, samo tumorske ćelije, retka fibroza) uočen je kod 4 bolesnika (17,5%), dok za 4 bolesnika (17,5%) TRG nije mogao biti precizno određen.

Ni jedan bolesnik koji je ostvario kliničku kompletnu regresiju nije operisan te za njih nije evidentiran tumorski regresioni gradus. Od 15 operisanih bolesnika kod kojih je klinički odgovor procenjen kao PR njih 5 (33,3%) je nakon histološke verifikacije resekovanog uzorka klasifikovano kao TRG 1. Takođe, od 8 operisanih bolesnika kod kojih je klinički odgovor procenjen ako SD, kompletna histološka regresija je verifikovana kod jednog bolesnika (12,5%), kao i TRG 2.

Korelacijom tumorskog regresionog gradusa i inicijalnog stadijuma bolesti nije uočena statistički značajna razlika. Inicijalno prisutna regionalna limfadenopatija, takođe, nije inverzno korelisala sa odgovorom na hemio-radioterapiju naših bolesnika, kao ni stepen diferentovanosti tumora.

Iako se nivo ekspresije EGFR se smatra negativnim prediktivnim faktorom u smislu odgovora na hemio-radioterapiju, u našoj studiji nije uočena statistički značajna razlika u odgovoru na hemio-radioterapiju u zavisnosti od nivoa ekspresije EGF receptora. Svi bolesnici kod kojih je inicijalno registrovan visok nivo EGFR imali su kompletan patohistološki odgovor na hemio-radioterapiju, dok kod EGFR negativnih bolesnika nema razlike u odgovoru na inicijalnu terapiju.

1992. godine Mandard i saradnici su analizirali 93 resekovana uzorka karcinoma jednjaka inicijalno lečenih hemio-radioterapijom. Potpuno odsustvo tumora, samo prisutna fibroza verifikovano je kod 42% uzoraka (TRG 1). Predominaciju kancerskih ćelija nad fibrozom (TRG 3) uočili su kod 20% uzoraka, a potpuno odsustvo regresionih promena (TRG 4) kod 33% uzoraka. Analiziranjem tumorske regresije i inicijalnog stadijuma bolesti uočeno je da izostaju regresione promene sa veličinom tumora. Takođe, prisustvo metastaza u regionalnim žlezdama inverzno je korelisalo sa tumorskom regresijom (128).

Rothagi i saradnici u svojoj studiji od 235 bolesnika inicijalno lečenih hemio-radioterapijom beleže 29% kompletnih patohistoloških odgovora. U ovoj studiji, takođe, analiziran je patohistološki odgovor na hemio-radioterapiju u zavisnosti od karakteristika bolesnika i samog tumora kao što su pol, starost, lokalizacija tumora, histološki stadijum, T i N status kao i klinički stadijum bolesti. U multivarijantnoj analizi zabeležen je veći procenat patohistološkog kompletnog odgovora kod bolesnika u II kliničkom stadijumu u odnosu na one u stadijumu III, dok za druge parametre nije bilo statističke značajnosti (121).

Schneider i saradnici u svojoj studiji nalaze jaku korelaciju u patohistološkom odgovoru tumora na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju u zavisnosti od T i N stadijuma bolesti. Naime, kompletna patohistološka regresija tumora je značajno češća u nižim stadijumima bolesti, što se posebno se odnosi i na N+ limfne žlezde koje takođe ulaze u TRG klasifikaciju (136).

Takeno i saradnici, s druge strane, nisu uočili korelaciju patohistološkog odgovora na hemio-radioterapiju u zavisnosti od stepena diferentovanosti T4 karcinoma jednjaka (169).

U studiji T. Arsenijević i saradnika, nije uočena statistički značajna razlika u kliničkom i histopatološkom odgovoru na hemio-radioterapiju EGFR pozitivnih i negativnih bolesnika ($p=0,928$). Naime, od 3 bolesnika koja su klinički kompletno odgovorila na kombinovano lečenje, sva tri su bila EGFR pozitivna, kao i 6 od 8 bolesnika koji su odmah nakon hemio-radioterapije progredirali. Samo jedan bolesnik od 7 kod kojih je zabeležen TRG 1 bio je EGFR negativan (194).

Rezultati kompletne patohistološke tumorske regresije u našoj grupi približavaju se rezultatima drugih autora, i ako mi nismo dokazali povezanost TRG i T stadijuma, N stadijuma bolesti kao i histološkog gradusa. S druge strane, dosadašnja istraživanja (154-157, 194), kao što je već navedeno, nisu dokazala povezanost ekspresije receptora za epidermalni faktor rasta i odgovora na hemio-radioterapiju. Naši rezultati su u saglasnosti sa ovim stanovištem.

U našoj studiji pojava relapsa je definisana kao prisustvo lokalnog ili regionalnog recidiva i/ili metastaza.

Nakon sprovedene hemio-radioterapije i operacije u srednjem vremenu praćenja od 9 meseci (rang 2-31 mesec) 23 bolesnika (37%) je imalo relaps, dok je kontrola bolesti zabeležena kod 41% bolesnika. Četrnaest bolesnika (22%) je izgubljeno iz praćenja.

Od 23 bolesnika koji su relapsirali, njih 5 (22%) je primalo neoadjuvantnu hemio-radioterapiju a potom operaciju, dok je kod 18 (45%) hemio-radioterapija sprovedena kao definitivna terapija. U našoj studiji uočena je statistički značajno češća pojava relapsa kod bolesnika koji nisu operisani.

Od 23 operisana bolesnika naše grupe, u srednjem vremenu praćenja od 9 meseci (rang 2-31 mesec) relapsiralo je 5 bolesnika (22%). Najčešće mesto relapsa bile su udaljene metastaze (18%), dok je samo kod jednog bolesnika (4%) verifikovan lokalni recidiv. Metastaze su bile prisutne u regionalnim limfnim žlezdama, jetri, plućima u mozgu. Dva operisana bolesnika su ispala iz praćenja i za njih nema podataka o relapsu bolesti.

Od 40 bolesnika naše serije koju su lečeni definitivnom hemio-radioterapijom relapsiralo je 18 bolesnika (45%) u istom vremenu praćenja. Njih

12 (30%) je izgubljeno iz praćenja i za njih nema sigurnih podataka o relapsu bolesti.

44% relapsa u grupi neoperisanih bolesnika zabeleženo je lokalno, a kod 3 bolesnika (17%) registrovana je i regionalna limfadenopatija. Udaljena diseminacija je uočena kod 56% neoperisanih bolesnika. Metastaze su bile prisutne u plućima (7 bolesnika), jetri (2 bolesnika) i kostima (3 bolesnika). Kod jednog bolesnika je zabeleženo krvarenje iz tumora, hemoragijska dijateza i hepatorenalni sindrom.

Od 10 bolesnika koji su progredirali u toku samog tretmana, njih troje (30%) imalo je lokalnu progresiju bolesti, dok je većina (70%) razvila udaljeni relaps. Jedan bolesnik je usled lokalne progresije bolesti iskrvario. Neoperisani bolesnici koji su ostvarili kompletan i parcijalni odgovor kao i stabilizaciju bolesti u najvećem procentu (80%) su razvili lokalni relaps bolesti.

U grupi bolesnika lečenih definitivnom hemio-radioterapijom, kao i u grupi operisanih bolesnika, nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa u zavisnosti od T stadijuma. Međutim, analiziranjem pojave relapsa bolesti u grupi operisanih bolesnika u zavisnosti od statusa limfnih žlezda, u našoj studiji uočena je statistički značajno češća pojava relapsa kod N0 bolesnika. Ova razlika u grupi neoperisanih bolesnika naše studije nije potvrđena. Pojava relapsa u grupi operisanih, ali i u grupi neoperisanih bolesnika, u zavisnosti od stepena diferentovanosti tumora kao i tumorske lokalizacije nije bila statistički značajna.

U grupi neoperisanih bolesnika nije uočena statistički značajna razlika u pojavi relapsa između bolesnika koji su na hemio-radioterapiju kompletno odgovorili u odnosu na one sa parcijalnom regresijom i stabilizacijom bolesti.

Iako se tumorski regresioni gradus se smatra značajnim prognostičkim faktorom u smislu preživljavanja i verovatnoće pojave relapsa, u našoj grupi statistički značajna razlika u pojavi relapsa u zavisnosti od TRG nije uočena.

Uvođenje neoadjuvantne hemio-radioterapije poboljšava lokalnu kontrolu bolesti u odnosu na samo hirurgiju, kako pokazuje Urba u svom trajalu 2001. godine. Veća pojava lokoregionalnog relapsa zabeležena je u grupi samo

operisanih bolesnika u odnosu na one koji su primali neoadjuvantnu hemio-radioterapiju (42% vs 19%). Međutim, pojava udaljene diseminacije bolesti je u obe grupe bila ista (60% vs 65%) (111).

Velika Francuska studija Bedenne i saradnika uključila je 444 bolesnika sa inicijalno operabilnim T3N0/+M0 karcinomom jednjaka. Bolesnici su podeljeni u dve grupe: prvu koja je primala definitivnu hemio-radioterapiju (5FU/CDDP+46Gy) i drugu koja je primala neoadjuvantnu hemio-radioterapiju a potom operisana. U srednjem vremenu praćenja od 47 meseci uočena je češća pojava relapsa u grupi neoperisanih bolesnika u odnosu na operisane (59,6% vs 56,7%). U grupi neoperisanih bolesnika uočena je značajno češća pojava lokalnog relapsa bolesti, dok se incidenca pojave metastaza nije razlikovala između ove dve grupe (HR=0,77, 95%CI, 0,49-1,24) (117).

Stahl i saradnici u svojoj studiji, takođe, navode češću pojavu lokalnog recidiva u grupi neoperisanih bolesnika u odnosu na one operisane (HR=2,1; 95%CI, 1,3-3,5). Međutim, dodatak hirurgije hemio-radioterapiji nije uticao na pojavu udaljenih metastaza (116).

Udaljeni relaps bolesti analizira i Heath u svojoj seriji, gde navodi da je od 42 bolesnika lečenih trimodalno (hemio-radioterapija+hirurgija), samo dvoje razvilo lokalni recidiv na anastomozi, dok je 13 imalo udaljenu diseminaciju bolesti (jetra, pluća, kosti i mozak). Šta više, ova stopa udaljenog relapsa bolesti menja racionalne za adjuvantnu terapiju. Niz autora uvodi taksane u preoperativnu, ali i adjuvantnu terapiju. Rezultati su optimistični, mada je toksičnost značajna (191).

Analiziranjem pojave relapsa bolesti u zavisnosti od T stadijuma bolesti, N stadijuma, stepena diferentovanosti tumora, njegove lokalizacije i odgovora na hemio-radioterapiju, Morita i saradnici beleže češću pojavu relapsa kod bolesnika kod kojih je inicijalno dokazana patološka limfadenopatija (HR=1,50; 95%CI; 1,13-2,00), onih koji nisu operisani kao i operisanih kod kojih je izostao odgovor na hemio-radioterapiju u tumorskom resektatu (HR=0,97; 95%CI; 0,73-1,30) ili su operisani sa R+ resekcijom (HR=0,52; 95%CI; 0,38-0,71) (188).

U grupi operisanih bolesnika naše studije uočena je statistički značajna razlika u pojavi relapsa između EGFR pozitivnih i negativnih bolesnika. Češća pojava relapsa uočena je u grupi EGFR pozitivnih bolesnika. Ni jedan bolesnik kod koga je ekspresija EGFR bila negativna nije relapsirao, kao i ni jedan bolesnik sa niskim nivoom ekspresije EGFR (EGFR 1). Ova statistički značajna razlika u grupi neoperisanih bolesnika nije potvrđena.

Nije bilo statistički značajne razlike u pojavi relapsa između EGFR pozitivnih i negativnih bolesnika.

Iako je u našoj grupi operisanih bolesnika pojava relapsa bolesti statistički značajno bila češća kod EGFR pozitivnih bolesnika, u grupi neoperisanih bolesnika ta razlika nije potvrđena. U studiji Gibault-a i saradnika objavljenoj 2005. godine uočena je, takođe, statistički značajno češća pojava lokalnog relapsa u grupi operisanih bolesnika sa karcinomom jednjaka kod kojih je registrovana visoka ekspresija receptora za epidermalni faktor rasta (149).

Delektorskaya i saradnici 2009. objavljuju slične rezultate. Naime, u grupi operisanih bolesnika sa karcinomom jednjaka koji su ostvarili rani lokalni, ali i udaljeni relaps, statistički značajno češće je uočena visoka EGFR pozitivnost ($p=0,038$) (190).

Na osnovu podataka iz literature, može se zaključiti da naši rezultati u velikoj meri koreliraju sa rezultatima drugih autora. I u našoj, kao i u drugim studijama uočena je češća pojava lokalnog recidiva kod neoperisanih bolesnika u odnosu na one operisane, ali operacija nije uticala na pojavu udaljenih metastaza. Takođe, češća pojava relapsa bolesti zabeležena je kod operisanih EGFR pozitivnih bolesnika, što je u saglasnosti sa rezultatima drugih autora.

Prosečno vreme praćenja u našoj studiji iznosilo je 9 meseci pri čemu je minimum praćenja iznosio dva meseca, a maksimum 31 mesec.

Na poslednjoj kliničkoj kontroli od 63 bolesnika uključenih u istraživanje, njih 21 (34%) imalo je kompletnu remisiju bolesti, 9 (14%) je ostvarilo parcijalnu regresiju, 9 bolesnika (14%) imalo je stabilizaciju bolesti, a 24 (38%) je progrediralo.

Do kraja studije umrlo je 28 bolesnika (44%). Usled osnovnog oboljenja i progresije bolesti umrlo je 23 bolesnika (82%), jedan bolesnik je imao CVI (4%), dok su 4 bolesnika (14%) umrli u postoperativnom toku. 35 bolesnika naše studije (56%) izgubljeno je iz praćenja.

Kod 5 bolesnika naše grupe (8%) verifikovali smo duplex karcinom u istom vremenu praćenja. Jedan bolesnik je imao karcinom kože, dva bolesnika karcinom želuca, jedan karcinom bubrega i jedan bolesnik karcinom larinksa.

Ukupno jednogodišnje preživljavanje (overall survival-OS) u celoj grupi bolesnika iznosilo je 53%, a dvogodišnje oko 36%.

Jednogodišnje vreme do progresije imalo je 64% bolesnika, a dvogodišnje čak njih 35%.

Na osnovu dosadašnjih istraživanja dodavanje hirurgije kombinovanoj hemio-radioterapiji poboljšava ukupno preživljavanje ovih bolesnika. U našoj studiji uočeno je statistički značajno bolje preživljavanje u grupi operisanih bolesnika u odnosu na neoperisane (72% vs 44% na godinu dana). Izdvajanjem grupe koja je na kombinovanu hemio-radioterapiju ostvarila kompletnu remisiju i upoređivanjem sa grupom operisanih bolesnika u smislu ukupnog preživljavanja nije uočena statistički značajna razlika.

Vreme do progresije bilo je statistički značajno duže u grupi operisanih bolesnika u odnosu na neoperisane. Jednogodišnje vreme do progresije imalo je preko 90% operisanih bolesnika, dok je u grupi neoperisanih bolesnika taj procenat iznosio 48%. Nakon dve godine bez relapsa bolesti je bilo oko 40% operisanih bolesnika, dok u grupi neoperisanih nije bilo bolesnika bez relapsa bolesti u ovom periodu. Izdvajanjem grupe neoperisanih bolesnika kod kojih je postignuta kompletna klinička remisija na hemio-radioterapiju, međutim, nije uočena statistički značajna razlika u vremenu do progresije u odnosu na operisane bolesnike.

Kao posebnu grupu u analiziranju preživljavanja izdvojili smo bolesnike lečene definitivnom hemio-radioterapijom koji su ostvarili kompletnu remisiju i operisane bolesnike. Ova grupa označena je kao ona sa kompletnom remisijom. U

ovoj grupi preživljavanje bez znakova bolesti (disease free survival-DFS) iznosilo je 8 meseci u proseku (rang 3-20 meseci), a jednogodišnje preživljavanje bez znakova bolesti oko 72%. Između operisanih bolesnika i onih koji su ostvarili kompletnu kliničku remisiju na hemio-radioterapiju nije uočena statistički značajna razlika u DFS.

U studiji Stahl i saradnika koja je poredila hemio-radioterapiju i hirurgiju samo sa hirurgijom lokalno uznapređovalog skvamocelularnog karcinoma jednjaka, nije bilo razlike u dvogodišnjem ukupnom preživljavanju obe grupe (40% vs 35%). Preživljavanje bez progresije bolesti bilo je bolje u grupi operisanih bolesnika (64% vs 40,7% na dve godine). Takođe, ova studija je pokazala da bolesnici koji su ostvarili kompletan odgovor na hemio-radioterapiju imaju trogodišnje ukupno preživljavanje oko 50% bez obzira da li su operisani ili ne, dok je preživljavanje onih koji nisu odgovorili na inicijalnu terapiju i nisu operisani ispod 10%. Kod bolesnika koji nisu odgovorili na kombinovanu terapiju ali su operisani sa R0 resekcijom, trogodišnje preživljavanje se povećalo na 32% (116).

Francuski trajal na čelu sa Bedenne i saradnicima poredi trimodalni tretman (hemio-radioterapija+hirurgija) sa definitivnom hemio-radioterapijom na 444 bolesnika. Srednje vreme preživljavanja u celoj grupi iznosilo je 16 meseci, a dvogodišnje ukupno preživljavanje imalo je 33% bolesnika. Iako je ukupno dvogodišnje preživljavanje operisanih bolesnika bilo nešto više (>10%) u odnosu na neoperisane bolesnike nije uočena statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju ove dve grupe. Lokoregionalni relaps je bio češći u grupi neoperisanih bolesnika (43% vs 34%) (117).

Japanci (Noguchi i saradnici) analizirali su odgovor i preživljavanje kod 41 bolesnika sa T4 inoperabilnim skvamocelularnim karcinomom jednjaka lečenih hemio-radioterapijom i hirurgijom i definitivnom hemio-radioterapijom. Srednje vreme praćenja bolesnika bilo je 11 meseci (rang 1-96 meseci), a medijana preživljavanja ovih bolesnika 10 meseci. Ukupno preživljavanje je bilo statistički značajno duže u grupi operisanih bolesnika u odnosu na neoperisane (13,8 meseci

vs 3,3 meseca). Ukupno preživljavanje na dve i pet godina iznosilo je 8,3% i 0% u grupi operisanih i 0% u grupi neoperisanih bolesnika (44).

Hennequin i saradnici takođe navode statistički značajno bolje dvogodišnje i petogodišnje preživljavanje bolesnika sa lokalno uznapredovalim karcinomom jednjaka (T3/4,N0/+) koji su parcijalno odgovorili na hemio-radioterapiju a potom operisani u odnosu na neoperisane bolesnike (63% i 40% na 2 i 5 godina) (118).

Srednje vreme praćenja naših bolesnika blisko je vremenu praćenja bolesnika u Japanskoj seriji lokalno uznapredovalog karcinoma jednjaka (T4) lečenih multimodalno.

Ukupno dvogodišnje preživljavanje naših bolesnika je u potpunosti u korelaciji sa rezultatima navedenih autora. I u našoj seriji, takođe, zabeleženo je bolje jednogodišnje preživljavanje operisanih bolesnika, što je u skladu sa literaturnim podacima.

Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima drugih autora i što se tiče vremena do progresije, koje je statistički značajno kraće bilo u grupi neoperisanih bolesnika.

Izdvajanjem grupe bolesnika koja nije operisana, a ostvarila je kompletnu remisiju na hemio-radioterapiju nismo uočili statistički značajnu razliku u ukupnom preživljavanju i vremenu do progresije u odnosu na operisane bolesnike, kao što su naveli i Francuski autori.

Analizom ukupnog preživljavanja neoperisanih bolesnika u zavisnosti od kliničkog odgovora na hemio-radioterapiju nismo uočili statistički značajnu razliku u ukupnom preživljavanju bolesnika koji su kompletno odgovorili na inicijalnu terapiju u odnosu na one sa parcijalnim odgovorom ili stabilizacijom bolesti. Za sve grupe ukupno jednogodišnje preživljavanje iznosilo je oko 50%. Ipak, kod onih koji su imali brzu progresiju bolesti nije bilo preživelih posle 9 meseci.

Između bolesnika sa kompletnim odgovorom, parcijalnim odgovorom i stabilizacijom bolesti, takođe, nema statistički značajne razlike u vremenu do progresije bolesti u grupi neoperisanih bolesnika. Jednogodišnje vreme do progresije za ove grupe iznosi oko 50%.

Crosby i saradnici su analizirali definitivnu hemio-radioterapiju kod inoperabilnog karcinoma jednjaka. Srednje vreme ukupnog preživljavanja bilo je 26 meseci. Dvogodišnje, trogodišnje i petogodišnje preživljavanje iznosilo je 51%, 45% i 26% respektivno. Značajno lošije preživljavanje uočeno je T4 grupi bolesnika (185).

Naši rezultati su u korelaciji sa navedenim rezultatima Crosby i saradnika.

Poređenjem ukupnog preživljavanja u odnosu na tumorski regresioni gradus operisanih bolesnika, nije uočena statistički značajna razlika u našoj grupi.

Iako se smatra da bolesnici kod kojih je ostvarena patohistološka kompletna remisija imaju bolje preživljavanje bez znakova bolesti, u našoj studiji nismo uočili statistički značajnu razliku u preživljavanju bez znakova bolesti operisanih bolesnika u odnosu na tumorski regresioni gradus.

Tumorski regresioni gradus nije korelisao ni sa vremenom do progresije u našoj grupi operisanih bolesnika.

U čuvenom trajalu Urba i saradnika, operisani bolesnici kod kojih je patohistološki verifikovana kompletna tumorska regresija na neoadjuvantnu hemio-radioterapiju imali su statistički značajno duže preživljavanje u odnosu na operisane bolesnike bez odgovora na inicijalnu terapiju. Jednogodišnje preživljavanje je iznosilo 86% i 52% respektivno, a trogodišnje 64% i 19% respektivno (111).

Berger 2004. godine objavljuje rezultate svoje studije u koju je uključen 171 bolesnik sa karcinomom jednjaka lečen hemio-radioterapijom i hirurgijom. Bolesnici koji su na inicijalnu terapiju ostvarili kompletnu patohistološku remisiju imali su drastično duže petogodišnje preživljavanje bez znakova bolesti u odnosu na one bez odgovora (62% vs 31%) (193).

Noguchi i saradnici navode da su operisani bolesnici kod kojih je patohistološki verifikovana kompletna tumorska regresija imali najduže preživljavanje od 38,9 meseci (44).

Rothagi i saradnici, takođe, beleže statistički značajno duže ukupno preživljavanje kao i preživljavanje bez znakova bolesti u grupi bolesnika koji su na

neoadjuvantnu hemio-radioterapiju ostvarili patohistološku kompletnu remisiju (121).

U našoj studiji nije uočena povezanost histopatološkog odgovora tumora na hemio-radioterapiju i preživljavanja što nije u korelaciji sa rezultatima drugih autora koji navode bolje preživljavanje kod bolesnika sa kompletnim patohistološkim odgovorom na kombinovano lečenje. Ova diskrepanca otvara pitanje bolje selekcije bolesnika za pojedine terapijske modalitete, obzirom da su navedene studije tretirale uglavnom bolesnike nižih kliničkih stadijuma.

Analiziranjem ukupnog preživljavanja u zavisnosti od EGFR pozitivne i negativne ekspresije nije uočena statistički značajna razlika u našoj grupi. EGFR negativni bolesnici imali su jednogodišnje preživljavanje oko 57%, a EGFR pozitivni oko 50%.

Takođe, nije uočena statistički značajna razlika u preživljavanju bez znakova bolesti kod EGFR pozitivnih i EGFR negativnih bolesnika.

Nismo uočili ni statistički značajnu razliku u vremenu do progresije u grupi bolesnika sa negativnom EGFR ekspresijom u odnosu na one sa pozitivnom ekspresijom ovog markera. I u jednoj i u drugoj grupi jednogodišnje vreme do progresije je iznosilo oko 50%.

Autori koji su se do sada najviše bavili ekspresijom EGFR receptora kod skvamocelularnog karcinoma jednjaka (Gibault, Ozawa, Gibson, Delktorskaya, Vallböhmer, Inada) navode da pozitivna EGFR ekspresija inverzno koreliše sa ukupnim preživljavanjem, kao i da je povezana sa brzim relapsom bolesti kod bolesnika lečenih multimodalno (149, 151, 155, 190, 195, 196).

Kitagawa i saradnici, takođe, daju podatak da je ukupno preživljavanje bolesnika sa genskom amplifikacijom EGF receptora statistički značajno lošije u odnosu na one bez genske amplifikacije ($p < 0,001$) (147).

Naši rezultati nisu u saglasnosti sa rezultatima navedenih autora, budući da mi nismo uočili povezanost EGFR ekspresije i ukupnog preživljavanja kao i vremena do progresije. Definitivni zaključci se, ipak, ne mogu izvesti, obzirom da su i navedene studije uključile samo mali broj strogo selektovanih bolesnika.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata naše prospektivne, nerandomizovane studije zaključili smo sledeće:

- Skvamocelularni karcinom jednjaka pokazuje visok nivo ekspresije receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR), ali ekspresija EGFR ne koreliše sa stadijumom bolesti, statusom limfnih žlezda i stepenom diferentovanosti tumora
- Najčešća toksičnost hemio-radioterapije skvamocelularnog karcinoma jednjaka je hematološka toksičnost (50%). Perioperativni mortalitet iznosi oko 3%
- Stopa kliničkog odgovora iznosi oko 50%. Inicijalni klinički stadijum bolesti, stepen diferentovanosti tumora i ekspresija EGF receptora ne korelišu sa kliničkim odgovorom.
- Stopa resektabilnosti karcinoma jednjaka nakon neoadjuvantne hemio-radioterapije iznosi oko 30%.
- Kompletan patohistološki odgovor na hemio-radioterapiju (tumorski regresioni gradus 1) iznosi oko 26%. Inicijalni klinički stadijum, stepen diferentovanosti tumora i ekspresija receptora za epidermalni faktor rasta ne korelišu sa patohistološkim odgovorom na hemio-radioterapiju bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka
- Dodavanje hirurgije neoadjuvantnoj hemio-radioterapiji poboljšava lokalnu kontrolu bolesnika, ali ne utiče na udaljenu diseminaciju.
- Pojava relapsa nije u zavisnosti od kliničkog stadijuma i stepena diferentovanosti tumora. Takođe, nema razlike u pojavi relapsa u zavisnosti od tumorskog regresionog gradusa u grupi operisanih bolesnika, kao ni u zavisnosti od odgovora na hemio-radioterapiju neoperisanih bolesnika
- Pojava relapsa bolesti je značajno češća u grupi EGFR pozitivnih bolesnika

- Hirurgija nakon neoadjuvantne hemio-radioterapije poboljšava ukupno preživljavanje bolesnika koji su na neoadjuvantnu kombinovanu terapiju parcijalno odgovorili ili postigli stabilizaciju bolesti
- Uvođenje hirurgije nakon hemio-radioterapije statistički značajno produžava vreme do progresije
- U preživljavanju bez znakova bolesti nema razlike između operisanih bolesnika i neoperisanih koji su na hemio-radioterapiju kompletno odgovorili
- U grupi neoperisanih bolesnika nema razlike u ukupnom preživljavanju i vremenu do progresije bolesti u zavisnosti od odgovora na hemio-radioterapiju.
- Uticaj tumorskog regresionog gradusa i EGFR ekspresije na ukupno preživljavanje i vreme do progresije nije definitivno utvrđen.

Uprkos ekstenzivnim studijama, nema sigurnih markera predikcije patohistološkog odgovora, a još je manje podataka o prognostičkim markerima u smislu preživljavanja bolesnika sa karcinomom jednjaka lečenih preoperativnom hemio-radioterapijom. Njihova identifikacija i dalja implementacija u kliničku praksu vodila bi mogućnosti izbora najoptimalnijeg tretmana za svakog bolesnika posebno. Konačni zaključci za sada ne postoje, te se očekuju dalja klinička istraživanja.

7. LITERATURA

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al. GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet] Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2010. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
2. Taghavi N, Biramijamal F, Sotoudeh M et al. Association of p53/p21 expression with cigarette smoking and prognosis in esophageal squamous cell carcinoma patients. *World J Gastroenterol* 2010;16(39):4958-4967
3. Lam AK. Molecular biology of esophageal squamous cell carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2000;33:71-90
4. Lightdale C.J. Esophageal cancer. *Am J Gastroenterol* 1999;94:20-27
5. Allum WH, Griffin SM, Watson A et al. Guidelines for management of oesophageal and gastric cancer. *GUT* 2002;50(Suppl V):v1-v23
6. Siegel R, Ward E, Brawley O et al. Cancer Statistics 2011. The Impact of Eliminating Socioeconomic and Racial Disparities on Premature Cancer Death. *CA Cancer J Clin* 2011;61:212-236
7. Enzinger P, Mayer R. Esophageal Cancer. *N Engl J Med* 2003;349:2241-2252
8. Vaughan TL, Davis S, Kristal A et al. Obesity, alcohol, and tobacco as risk factors for cancers of the esophagus and gastric cardia: Adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 1995;4:85-92
9. Engel LS, Chow WH, Vaughan TL et al. Population attributable risks of esophageal and gastric cancers. *J Natl Cancer* 2003;95:1404-1413
10. Mandard AM, Hainaut P, Hollstein M. Genetic steps in the development of squamous cell carcinoma of the esophagus. *Mutation Research* 2000;462:335-342
11. Garidou A, Tzonou A, Lipworth L et al. Life-style factors and medical conditions in relation to esophageal cancer by histologic type in a low-risk population. *Int J Cancer* 1996;68:295-9
12. Hanahan D, Weinberg R. Hallmarks of cancer: The Next Generation. *Cell* 2011;144:646-669
13. Risk JM, Mills HS, Garde J et al. The tylosis esophageal cancer (TOC) locus: more than just a familiar cancer gene. *Dis Esophagus* 1999;12:173-176
14. Lagergren J, Ye W, Lindgren A et al. Heredity and risk of cancer of the esophagus and gastric cardia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:757-760

15. Ojala K, Sorri M, Jokinin K. Symptoms of carcinoma of the sophagus. *Med J Aust* 1982;1:384-385
16. Guanrei Y, He H, Sunghong Q et al. Endoscopic diagnosis of 115 cases of early esophageal carcinoma. *Endoscopy* 1982; 14:157-161
17. Jacob P, Kahrilas PJ, Desai T et al. Natural history and significance of esophageal squamous cell dysplasia. *CANCER* 1990;65:2731-2739
18. Mori M, Adachi Y, Mastsushima T et al. Lugol staining pattern and histology of esophageal lesions. *Am J Gastroenterol* 1993;88:701-705
19. Adachi Y, Kitamura K, Tsutsui S et al. How to detect early carcinoma of the esophagus. *Hepatogastroenterology* 1993;40:207-211
20. Zemanova M, Novak F, Vitek P et al. Outcomes of patients with oesophageal cancer treated with preoperative chemo-radiotherapy, followed by tumor resection: influence of nutritional status. *J BUON* 2012;17:310-316
21. Plavšić B. Radiologija jednjaka. U: Plavšić B. Radiologija probavnog kanala. Prvo izdanje. Školska knjiga. Zagreb. 1989. p 239-247
22. Chapman AHA, Spencer JA, Guthrie JA et al. The salivary glands, pharynx and esophagus. In: Sutton D. *Textbook of radiology and imaging*. Volume 1. Second Edition. Churchill-Livingstone. 2003. p 533-575
23. Dooley CP, Larson AW, Stace NH et al. Double contrast barium meal and upper gastrointestinal endoscopy. *Ann Intern Med* 1984;101:538-545
24. TNM Classification of Malignant Tumors. 7th Edition. Sobin LH, Gospodarowicz, Witterkind Ch. 2009.
25. Lightdale CJ. Staging of esophageal cancer I: Endoscopic ultrasonography. *Semin Oncol* 1994;21:438-446
26. Thompson WM, Halvorsen RA Jr. Staging esophageal carcinoma II: CT and MRI. *Semin Oncol* 1994;21:447-452
27. Van Dam J. Endosonographic Evaluation of the patient with esophageal cancer. *Chest* 1997;112:184S-190S
28. Saunders HS, Wolfman NT, Ott DJ. Oesophageal cancer: radiological staging. *Radiol Clin North Am* 1997;35:281-294
29. Takashima S, Takeuchi N, Shiazaki et al. Carcinoma of the esophagus: CT vs MR imaging in determining resectability. *Am J Roentgenol* 1991;156:297-302

30. Consigliere D, Chua CIL, Hui F et al. Computed tomography in the pre-operative evaluation of resectability and staging in oesophageal carcinoma. *Eur J Surg* 1992;158:537-540
31. Vilgrain V, Mompoin D, Palazzo L et al. Staging of esophageal carcinoma: Comparison of results with endoscopic sonography and CT. *Am J Roentgenol* 1990;155:277-281
32. Rösch T. Endosonographic staging of esophageal cancer. A review of literature results. *Gastrointest Endosc Clin North Am* 1995;5:537-547
33. Marez LL, Deveney CW, Lopez RR et al. Role of computed tomographic scans in the staging of esophageal and proximal gastric malignances. *Am J Surg* 1993;165:558-560
34. Botet JF, Lightdale CJ, Zauber AG et al. Preoperative staging of esophageal cancer: Comparison of endoscopic US and dynamic CT. *Radiology* 1991;181:419-425
35. Goei R, Lamers RJ, Engelshove HA et al. Computed tomographic staging of esophageal carcinoma: A study on interobserver variation and correlation with pathological findings. *Eur J Radiol* 1992;15:40-44
36. Ziegler K, Sanft C, Zimmer T et al. Comparison of computed tomography, endosonography and intraoperative assessment in TN staging of gastric carcinoma. *GUT* 1993;34:604-610
37. Tio TL, Cohen P, Coene PP et al. Endosonography and computed tomography of esophageal carcinoma. *Gastroenterology* 1989;96:1478-1486
38. Quint LE, Hepburn LM, Francis IR et al. Incidence and distribution of distant metastases from newly diagnosed esophageal carcinoma. *Cancer* 1995;76:1120-1125
39. Flamen P, Lerut A, Van Cutsem E et al. Utility of positron emission tomography for the staging of patients with potentially operable esophageal cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:3202-3210
40. Brücher B, Weber W, Bauer M et al. Neoadjuvant Therapy of Esophageal Squamous Cell Carcinoma: Response Evaluation by Positron Emission Tomography. *Ann Surg* 2001;233:300-309
41. Rice TW, Adelstein DJ. Precise Clinical Staging Allows Treatment Modification of Patients with Esophageal Carcinoma. *Oncology* 1997; 11(9):58-62

42. Urba S. Esophageal cancer: preoperative or definitive chemoradiation. *Ann Oncol* 2004;15(4):iv93-iv96
43. Gebski V, Burmeister B, Smithers BM et al. Survival benefits from neoadjuvant chemoradiotherapy or chemotherapy in oesophageal carcinoma: a meta analysis. *Lancet Oncol* 2007;8:226-234
44. Noguchi T, Moriyama H, Wada S et al. Resection surgery with neoadjuvant chemoradiotherapy improves outcomes of patients with T4 esophageal carcinoma. *Dis Esophagus* 2003;16:94-98
45. Ikeda K, Ishida K, Sato N et al. Chemoradiotherapy followed by surgery for thoracic esophageal cancer potentially or actually involving adjacent organs. *Dis Esophagus* 2001;14:197-201
46. Moore Joshi MB, Shirota Y, Danenberg KD et al. High gene expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:2215-2221
47. Ku GY, Ilson DH. Multimodality therapy for the curative treatment of cancer of the esophagus and gastroesophageal junction. *Expert Rev. Anticancer Ther* 2008;8(12):1-9
48. Reed CE. Surgical management of esophageal carcinoma. *Oncologist* 1999;4:95-105
49. Hofstetter W, Swisher S, Correa A et al. Treatment Outcomes of Resected Esophageal Cancer. *Ann Surg* 2002;236(3):376-385
50. Mariette C, Balon J-M, Piessen G et al. Pattern of Recurrence Following Complete Resection of Esophageal Carcinoma and Factors Predictive of Recurrent Disease. *Cancer* 2003;97:1616-1623
51. Dexter SPL, Sue-Ling H, McMahon MJ et al. Circumferential resection margin involvement: an independent predictor of survival following surgery for oesophageal cancer. *GUT* 2001;48:667-670
52. Izbicki JR, Hosch SB, Pichlmeier U et al. Prognostic value of immunohistochemically identifiable tumor cells in lymph nodes of patients with completely resected esophageal cancer. *N Engl J Med* 1997;337:1188-1194
53. Kahn OA, Fitzgerald JJ, Soomro I et al. Prognostic significance of circumferential resection margin involvement following oesophagectomy for cancer. *Br J Cancer* 2003;88:1549-1552

54. Kitajama M, Kitagawa Y. Surgical Treatment of Esophageal Cancer-The Advent of the Era of Individualization. *N. Engl J Med* 2002;347:1705-1708
55. Lerut T, De Leyn P, Coosemans W et al. Surgical Strategies in Esophageal Carcinoma with Emphasis on Radical Lymphadenectomy. *Ann Surg* 1992;216:583-589
56. Oringer MB, Marshall B, Iannettoni M. Transhiatal Esophagectomy: Clinical Experience and Refinements. *Ann Surg* 1999;230:392-403
57. Oringer MB, Marshall B, Stirling MC. Transhiatal esophagectomy for benign and malignant disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:265-277
58. Muller JM, Erasmi H, Stelzner M et al. Surgical therapy of esophageal carcinoma. *Br J Surg* 1990;77:845-857
59. Bolton JS, Sardi A, Bowen JC et al. Transhiatal and transthoracic esophagectomy: a comparative study. *J Surg Oncol* 1992;51:249-253
60. Nguyen NT, Follette DM, Wolfe BM et al. Comparison of minimally invasive transthoracic and transhiatal esophagectomy. *Arch Surg* 2000;135:920-925
61. Hulscher JBF, van Sandick JW, de Boer AGEM et al. Extended transthoracic resection compared with limited transhiatal resection for adenocarcinoma of the esophagus. *N Engl J Med* 2002;347:1662-1669
62. Giuli R, Sancho-Garnier H. Diagnostic, therapeutic and prognostic features of cancers of the esophagus: results of the international prospective study conducted by the OESO group. *Surgery* 1986;5:614-622
63. Sons HU, Borchard F. Cancer of the distal oesophagus and cardia. Incidence, tumorous infiltration and metastatic spread. *Ann Surg* 1986;203:188-195
64. Bedard ELR, Inculet RI, Malthaner RA et al. The role of surgery and postoperative chemoradiation therapy in patients with lymph node positive esophageal carcinoma. *Cancer* 2001;91:2423-2430
65. Altorki NK, Girardi L, Skinner DB. En block esophagectomy improves survival for stage III esophageal cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;114:948-956
66. Altorki NK, Skinner DB. Should en block esophagectomy be the standard of care for esophageal carcinoma? *Ann Surg* 2001;234:581-587
67. Akiyama H, Tsurumaru M, Udagawa H et al. Radical lymph node dissection for cancer of the thoracic esophagus. *Ann Surg* 1994;220:364-373
68. Siewert JR, Roder JD. Lymphadenectomy in oesophageal cancer surgery. *Dis Esophagus* 1992;2:91-97

69. Herskovic A, Russell W, Liptay M et al. Esophageal carcinoma advances in treatment results for locally advanced disease: review. *Ann Oncol* 2012; 23:1095-1103
70. Peyre CG, Hagen JA, DeMeester SR et al. The number of lymph nodes removed predicts survival in esophageal cancer; an international study on the impact of extent of surgical resection. *Ann Surg* 2008;248:549-556
71. Altorki NK, Zhou XK, Stiles B et al. Total number of resected lymph nodes predicts survival in esophageal cancer. *Ann Surg* 2008; 248:221-226
72. Schwarz RE, Smith DD, Clinical impact of lymphadenectomy extent in respectable esophageal cancer. *J Gastrointest Surg* 2007;11:1384-1393
73. Giuli R, Gignoux M. Treatment of carcinoma of the esophagus: retrospective study of 2,400 patients. *Carcinoma Esophag* 1980;192:44-52
74. Blazeby JM, Farndon JR, Donovan J et al. A prospective longitudinal study examining the quality of life of patients with esophageal carcinoma. *Br J Surg* 1999;86:1781-1786
75. Ellis FH, Gibb SP. Esophagectomy for carcinoma. Current hospital mortality and morbidity rates. *Ann Surg* 1979;190:699-705
76. Van Lanschot JJ, Hulscher JBF, Buskens CJ et al. Hospital volume and hospital mortality for esophagectomy. *Cancer* 2001;19:1574-1578
77. Birkmeyer JD, Siewers AE, Finlayson EVA et al. Hospital volume and surgical mortality in the United States. *N Engl J Med* 2002;346:1128-1137
78. Peacock JL, Keller JW, Asbury RF. Esophagus. In: *Clinical Oncology. A multidisciplinary approach for physicians and students*. 7th Edition. Rubin Philip. 1993. p 557-567
79. Smalley SR, Gunderson LL, Reddy EK et al. Radiotherapy alone in esophageal carcinoma: Current management and future directions of adjuvant, curative, and palliative approaches. *Semin Oncol* 1994;21:467-473
80. Arnott SJ, Duncan W, Gignoux M, et al. Preoperative radiotherapy in esophageal carcinoma: a meta-analysis using individual patient data (Oesophageal Cancer Collaborative Group). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;41:579-83.
81. Herskovic A, Martz K, Al-Sarraf M et al. Combined chemotherapy and radiotherapy compared with radiotherapy alone in patients with cancer of the esophagus. *N Engl J Med* 1992;326:1593-1598

82. Dobbs J, Barrett A, Ash D. Practical radiotherapy planning. 3th Edition. Arnold. 1999. p 186-199
83. Gazdda M.J, Lawrence R, Coia MD. Radiation treatment planning and techniques. Cancer Management: A Multidisciplinary Approach. Medical, Surgical & Radiation Oncology. PRR. Huntington NY, First Edition 1996/97: p 593-604
84. ICRU 50 Prescribing, Recording, and Reporting Photon Beam Therapy (1993) Available from: <http://icru.org>
85. ICRU 62 Prescribing, Recording and Reporting Photon Beam Therapy (Supplement to ICRU Report 50) (1999) Available from: <http://icru.org>
86. Staffurth J. A review of the clinical evidence for Intensity-modulated radiotherapy. Clin Oncol 2010;22:643-657
87. NCI-Common Toxicity Criteria, Version 2.0. National Cancer Institute, Division of Cancer Treatment 1999.
88. Cooper JS, Guo MD, Herskovic A et al. Chemoradiotherapy of Locally Advanced Esophageal Cancer. Long-term Follow-up of a Prospective Randomized Trial (RTOG 85-01). JAMA. 1999;281(17):1623-1627
89. Chowhan NM. Injurious effects of radiation on the esophagus. Am J Gastroenterol 1990; 85:115
90. Coia LR, Myerson RJ, Tepper JE. Late effects of radiation therapy on the gastrointestinal tract. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1995; 31:1213
91. Emami B, Lyman J, Brown A, et al. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1991; 21:109
92. Seaman WB, Ackerman LV. The effect of radiation on the esophagus; a clinical and histologic study of the effects produced by the betatron. Radiology 1957; 68:534
93. Krajina Z, Hercerg T. Liječenje nuspojava u tijeku i nakon radioterapije. U: Šamija M, Krajina Z, Purišić A. Radioterapija. Prvo izdanje. Nakladni zvod Globus. Zagreb. 1996. p 383-388
94. Bhansali MS, Vaidya JS, Bhatt RG et al. Chemotherapy for carcinoma of the esophagus: A comparison of evidence from meta-analysis of randomized trials and of historical control studies. Ann Oncol 1996;7:355-359
95. Carter SK, Bakowski MT, Hellmann K. Chemotherapy of cancer. 3th Edition. Wiley Medical, John Wiley & Sons. 1987.

96. Keshava C, Keshava N, Whong WZ et al. Inhibition of methotrexate-induced chromosomal damage by folinic acid in V79 cells. *Mutat Res* 1998;397(2): 221-228.
97. Whelan J. Targeted taxane therapy for cancer. *Drug Discovery Today* 2002;7(2): 90-92
98. Ando N, Iizuka T, Kakegawa T et al. A randomized trial of surgery with and without chemotherapy for localized squamous carcinoma of the thoracic esophagus: The Japan Clinical Group Study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;114:205-209
99. Ando N, Iizuka T, Ide H et al. A randomized trial of surgery alone vs surgery plus postoperative chemotherapy with Cisplatin and 5-fluorouracil for localized squamous carcinoma of the thoracic esophagus: The Japan Clinical Oncology Group Study (JCOG 9204). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999;18:269a
100. Chau I, Cunningham D. Perioperative chemotherapy for cancer of the esophagus and the esophagogastric junction. *ASCO Educational Book* 2003:429-40
101. Urschel JD, Vasan H. A meta-analysis of randomized controlled trials that compared neoadjuvant chemotherapy and surgery to surgery alone for resectable esophageal cancer. *Am J Surg* 2002;183:274-279
102. Medical Research Council Oesophageal Cancer Working Group. Surgical Resection with or without preoperative chemotherapy in esophageal cancer: a randomized controlled trial. *Lancet* 2002;359:1727-1733
103. Kelsen DP, Winter KA, Gunderson LL et al. Long-term results of RTOG trial 8911 (USA Intergroup 113): a random assignment trial comparison of chemotherapy followed by surgery compared with surgery alone for esophageal cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:3719-3725
104. Ancona E, Ruol A, Castoro C et al. First-line chemotherapy improves the resection rate and long-term survival of locally advanced (T4, any N, M0) squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus. *Ann Surg* 1997;226:714-724
105. Minsky BD, Neuberg D, Kelsen DP et al. Final report of Intergroup trial 0122 (ECOG PE-289, RTOG 90-12): phase III trial of neoadjuvant chemotherapy plus concurrent chemotherapy and high-dose radiation for squamous cell carcinoma of the esophagus. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;43:517-523
106. Minsky BD, Pajak TF, Ginsberg RJ et al. INT 0123 (Radiation Therapy Oncology Group 94-05) phase III trial of combined-modality therapy for esophageal cancer: high-dose versus standard-dose radiation therapy. *J Clin Oncol* 2002;20:1167-1174

107. Nygaard K, Hagen S, Hansen HS, et al. Pre-operative radiotherapy prolongs survival in operable esophageal carcinoma: a randomized, multicenter study of pre-operative radiotherapy and chemotherapy: the second Scandinavian trial in esophageal carcinoma. *World J Surg* 1992;16:1104-1110
108. Le Prise E, Etienne PL, Meunier B, et al. A randomized study of chemotherapy, radiation therapy, and surgery versus surgery for localized squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer* 1994;73:1179-1184
109. Walsh T, Noonan N, Hollywood D et al. A comparison of multimodal therapy and surgery for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1996;335:462-467
110. Bosset J-F, Gignoux M, Triboulet J-P, et al. Chemoradiotherapy followed by surgery compared with surgery alone in squamous cell cancer of the esophagus. *N Engl J Med* 1997;337:161-167
111. Urba SG, Orringer MB, Turrisi A et al. Randomized trial of preoperative chemoradiation versus surgery alone in patients with locoregional esophageal carcinoma. *J Clin Oncol* 2001;19:305-313
112. Burmeister BH, Smithers BM, Gebski V et al. Surgery alone versus chemoradiotherapy followed by surgery for respectable cancer of the esophagus: a randomized controlled trial. *Lancet Oncol* 2005;6:659-668
113. Apinop C, Puttisak P, Preecha N. A prospective study of combined therapy in esophageal cancer. *Hepatogastroenterology* 1994;41:391-393.
114. Tepper J, Krasna MJ, Niedzwiecki D et al. Phase III trial of trimodality therapy with Cisplatin, fluorouracil, radiotherapy, and surgery compared with surgery alone for esophageal cancer: CALGB 9781. *J Clin Oncol* 2008;26:1086-1091
115. Kaklamanos IG, Walker GR, Ferry K et al. Neoadjuvant treatment for resectable cancer of the esophagus and the gastroesophageal junction: A meta-analysis of randomized trials. *Ann Surg Oncol* 2003;10(7):754-761
116. Stahl M, Stuschke M, Lehmann N et al. Chemoradiation with and without surgery in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the esophagus. *J Clin Oncol* 2005;23:2310-2317
117. Bedenne L, Michel P, Bouche O et al. Chemoradiation followed by surgery compared with chemoradiation alone in squamous cancer of the esophagus: FFCD 9102. *J Clin Oncol* 2007;25:1160-1168

118. Hennequin C, Gayet B, Sauvanet A et al. Impact on survival of surgery after concomitant chemoradiotherapy for locally advanced cancers of the esophagus. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;49:657-664
119. Kim MK, Kim SB, Ahn JH et al. Treatment outcome and recursive partitioning analysis-based prognostic factors in patients with esophageal squamous cell carcinoma receiving preoperative chemoradiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 71 (3): 725-734
120. Berger AC, Farma J, Scott WJ et al. Complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy in esophageal carcinoma is associated with significantly improved survival. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4330-4337
121. Rothagi P, Swisher SG, Correa AM et al. Characterization of pathologic complete response after preoperative chemoradiotherapy in carcinoma of the esophagus and outcome after pathologic complete response. *Cancer* 2005,104:2365-2372
122. Ancona E, Ruol A, Santi S et al. Only pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy improves significantly the long term survival of patients with respectable esophageal squamous cell carcinoma. Final report of a randomized, controlled trial of preoperative chemotherapy versus surgery alone. *Cancer* 2001;91:2165-2174
123. Chirieac LR, Swisher SG, Ajani JA et al. Posttherapy pathologic stage predicts survival in patients with esophageal carcinoma receiving preoperative chemoradiation. *Cancer* 2005;103:1347-1355
124. Imdahl A, Bogner G, Schulte-Mönting J et al. Predictive factors for response to neoadjuvant therapy in patients with oesophageal cancer. *Eur J Cardio-thoracic Surg* 2002; 21: 657-663
125. Dunne B, Reynolds JV, Muligan E et al. A pathological study of tumor regression in oesophageal adenocarcinoma treated with preoperative chemoradiotherapy. *J Clin Pathol* 2001;54:841-845
126. Japanese Society for Esophageal Disease. Pathological classification. In: Guidelines for clinical and pathologic studies on carcinoma of the esophagus, 8th ed. Tokyo: Kanehara, 1992;59-93
127. Braun OM, Neumeister MT, Popp W et al. Histologic tumor regression grade in squamous cell carcinoma of the head and neck after preoperative radiochemotherapy. *Cancer* 1989;63:1097-1100

128. Mandard A-M, Dalibard F, Mandard J-C et al. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. *Cancer* 1994;73:2680-2686
129. Gibson MK, Abraham SC, Wu TT et al. Epidermal growth factor receptor, p53 mutation, and pathological response predict survival in patients with locally advanced esophageal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 6461-6468
130. Polee MB, Hop WCJ, Kok TC et al. Prognostic factors for survival in patients with advanced oesophageal cancer treated with cisplatin-based combination chemotherapy. *Br J Cancer* 2003; 98: 2045-2050
131. Denham JW, Burmeister BH, Lamb NA et al. Factors influencing outcome following radio-chemotherapy for oesophageal cancer. *Radiother Oncol* 1996;40:31-43
132. Eloubedi MA, Desmond R, Arguedas MR te al. Prognostic factors for the survival of patients with esophageal carcinoma in the U.S. *Cancer* 2002; 95: 1434-1443
133. Di Fiore F, Leclaire S, Rigal O et al. Predictive factors of survival in patients treated with definitive chemoradiotherapy foe squamous cell esophageal carcinoma. *World J Gastroneterol* 2006;12(26):4185-4190
134. Kim KM, Sung-Bae K, Ahn JH et al. Treatment outcome and recursive partitioning analysis-based prognostic factors in patients with esophageal squamous cell carcinoma receiving preoperative chemoradiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008;71:725-734
135. Kleinberg L, Knisely JPS, Heitmiller R et al. Mature survival results with preoperative Cisplatin, protracted infusion 5-fluorouracil, and 44Gy radiotherapy for esophageal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;56:328-334
136. Schneider PM, Baldus SE, Metzger R et al. Histomorphologic tumor regression and lymph node metastases determine prognosis following neoadjuvant radiochemotherapy for esophageal cancer. *Ann Surg* 2005;242:684-692
137. Boone J, van Hillegersberg R, Offerhaus GJA et al. Targets for molecular therapy in esophageal squamous cell carcinoma: an immunohistochemical analysis. *Dis Esopagus* 2009;10:496-504
138. Ahn M-J, Jang S-J, Park Y-W et al. Clinical prognostic values of vascular endothelial growth factor, microvessel density, and p53 expression in esophageal carcinomas. *J Korean Med Sci* 2002;17:201-207

139. Silvestrini R, Veneroni S, Benini E et al. Expression of p53, Glutathione S-Transferase- Π , and Bcl-2 proteins and benefit from adjuvant radiotherapy in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:639-645
140. Ohbu M, Kobayashi N, Okayasu I. Expression of cell cycle regulatory proteins in the multistep process of oesophageal carcinogenesis: stepwise over-expression of cyclin E and p53, reduction of p21^{WAF1/CIP1} and dysregulation of cyclin D1 and p27^{KIP1}. *Histopathology* 2001;39:589-596
141. Harpole D Jr, Moore M-B, Herndon JE et al. The prognostic value of molecular marker analysis in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:562-569
142. Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF- κ B. *Genes Dev* 2004;18:2195-2224
143. Okumura H, Natsugoe S, Matsumoto M et al. The predictive value of p53, p53R2, and p21 for the effect of chemoradiation therapy on esophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2005;92:284-289
144. Grünwald V, Hidalgo M. Developing inhibitors of the epidermal growth factor receptor for cancer treatment. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:851-867
145. Mendelsohn J, Baselga J. The EGF receptor family as targets for cancer therapy. *Oncogene* 2000;19:6550-6565
146. Carpenter G, Cohen S. Epidermal Growth Factor. *J Biol Chem* 1990;265:7709-7712
147. Kitagawa Y, Ueda M, Ando N et al. Further evidence for prognostic significance of epidermal growth factor receptor gene amplification in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 1996;2:909-914
148. Ku GY, Ilson DH. Esophagogastric cancer: Targeted agents. *Cancer Treat Rev* 2010;36:235-248
149. Gibault L, Metges J-P, Conan-Charlet V et al. Diffuse EGFR staining is associated with reduced overall survival in locally advanced oesophageal squamous cell cancer. *Br J Cancer* 2005;93:107-115
150. Han U, Can OI, Kayhan B et al. Expression of p53, VEGF C, p21: could they be used in preoperative evaluation of lymph node metastases of esophageal squamous cell carcinoma? *Dis Esophagus* 2007;20:379-385
151. Ozawa S, Ueda M, Ando N et al. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 1989;63:2169-2173

152. Itakura Y, Sasano H, Shiga C et al. Epidermal growth factor receptor overexpression in esophageal carcinoma. *Cancer* 1994;74:795-804
153. Mukaida H, Toi M, Hirai T et al. Clinical significance of the expression of epidermal growth factor and its receptor in esophageal cancer. *Cancer* 1991;68:142-148
154. Hickey K, Grehan D, Reid I et al. Expression of epidermal growth factor receptor and proliferating cell nuclear antigen predicts response of esophageal squamous cell carcinoma to chemoradiotherapy. *Cancer* 1994;74:1693-1698
155. Gibson MK, Abraham SC, Wu T-T et al. Epidermal growth factor receptor, p53 mutation, and pathological response predict survival in patients with locally advanced esophageal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Clin Cancer Res* 2003;9:6461-6468
156. Miyazono F, Metzger R, Warnecke-Eberz U et al. Quantitative c-erbB-2 but not c-erbB-1 mRNA expression is a promising marker to predict minor histopathologic response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer. *Br J Cancer* 2004;91:666-672
157. Akamatsu M, Matsumoto T, Oka K et al. c-erbB-2 oncoprotein expression related to chemoradioresistance in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;57:1323-1327
158. Shimada H, Hoshino T, Okazumi S et al. Expression of angiogenic factors predicts response to chemoradiotherapy and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2002;86:552-557
159. Kulke MH, Odze RD, Mueller JD et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor and cyclooxygenase 2 expression in patients receiving preoperative chemoradiation for esophageal cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127:1579-1586
160. McDonnell CO, Harmey JH, Bouchier-Hayes DJ et al. Effect of multimodal therapy on circulating vascular growth factor receptor levels in patients with oesophageal cancer. *Br J Surg* 2001;88:1105-1109
161. Shih C-H, Ozawa S, Ando N et al. Vascular endothelial growth factor receptor expression predicts outcome and lymph node metastases in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Clin Cancer Res* 2000;6:1161-1168
162. Inoue K, Ozeki Y, Suganuma T et al. Vascular endothelial growth factor receptor in primary esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 1997;79:206-213

163. Kleespies A, Guba M, Jauch KW et al. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surg Oncol* 2004;87:95-104
164. Tanigawa N, Matsumura M, Amaya H et al. Tumor vascularity correlates with the prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 1997;79:220-225
165. Lowe SW, Bodis S, McClatchey A et al. p53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo. *Science* 1994;266:807-810
166. Kitamura K, Saeki H, Kawaguchi H et al. Immunohistochemical status of the p53 protein and Ki-67 antigen using biopsied specimen can predict a sensitivity to neoadjuvant therapy in patients with esophageal cancer. *Hepatogastroenterology* 2000;47:419-423
167. Shimada Y, Watanabe G, Yamasaki S et al. Histological response of Cisplatin predicts patient's survival in esophageal cancer and p53 protein accumulation in pretreatment biopsy is associated with Cisplatin sensitivity. *Eur J Cancer* 2000;36:987-993
168. Ikeda G, Isaji S, Das BC et al. Prognostic significance of biologic factors in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer* 1999;86:1396-1405
169. Takeno S, Noguchi T, Takahashi Y et al. Immunohistochemical and clinicopathologic analysis of response to neoadjuvant therapy for esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2001;14:149-154
170. Muro K, Ohtsu A, Bou N et al. Association of p53 protein expression with response and survival of patients with locally advanced esophageal carcinoma treated with chemoradiotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 1996;26:65-69
171. Riberio U Jr, Finkelstein SD, Safatle-Riberio A et al. p53 sequence analysis predicts treatment response and outcome of patients with esophageal carcinoma. *Cancer* 1998;83:7-18
172. Fareed KR, Kaye P, Soomro IN et al. Biomarkers of response to therapy in oesophago-gastric cancer. *GUT* 2009;58:127-143
173. Nakashima S, Natsugoe S, Matsumoto M et al. Expression of p53 and p21 is useful for prediction of preoperative hemoradiotherapeutic effects in esophageal cancer. *Anticancer Res* 2000;20:1933-1937
174. Kuwahara M, Hirai T, Yoshida K et al. p53, p21 (Waf1/Cip1) and cyclin D1 protein expression and prognosis in esophageal cancer. *Dis Esophagus* 1999;12:116-119

175. Izzo JG, Correa AM, Wu TT et al. Pretherapy nuclear factor-kB status, chemoradiation resistance, and metastatic progression in esophageal carcinoma. *Mol Cancer Ther* 2006; 5 (11): 2844-2850
176. Yeh KH, Shun CT, Chen CL et al. High expression of thymidilate synthase is associated with the drug resistance of gastric carcinoma to high-dose 5-fluorouracil-based systemic chemotherapy. *Cancer* 1998;82:1626-1631
177. Fukuda H, Takiguchi N, Koda K et al. Thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase are related to histological effects of 5-fluorouracil and Cisplatin neoadjuvant chemotherapy for primary gastric cancer. *Cancer Invest* 2006;24:235-241
178. Alexander HR, Grem JL, Hamilton JM et al. Thymidylate synthase protein expression: Association with response to neoadjuvant chemotherapy and resection for locally advanced gastric and gastroesophageal adenocarcinoma. *Cancer J Sci Am* 1995;1:49-54
179. Kwon HC, Roh MS, Oh SY et al, Prognostic value of expression of ERCC1, thymidylate synthase, and glutathione S-transferase P1 for 5-fluorouracil/oxaliplatin chemotherapy in advanced gastric cancer. *Ann Oncol* 2007;18:504-509
180. Moore Joshi MB, Shirota Y, Danenberg KD et al. High gene expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:2215-2221
181. Oken MM, Creech RH, Tormey DC et al. Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982;5:649-655
182. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Available from: <http://nccn.org>
183. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(3):205-216.
184. Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. *Cancer* 2001;92:1331-1346
185. Crosby TDL, Brewster AE, Borley A et al. Definitive chemoradiation in patients with inoperable oesophageal carcinoma. *Br J Cancer* 2004;90:70-75

186. Crehange G, Maingon P, Peignaux K et al. Phase III trial of protracted compared with split-course chemoradiation for esophageal carcinoma: Federation Francophone de Cancerologie Digestive 9102. *J Clin Oncol* 2007;25:4895-4901
187. Burmeister BH, Rad FF, Denham JW et al. Combined modality therapy for esophageal carcinoma: preliminary results from a large Australasian multicenter study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;32:997-1006
188. Morita M, Masuda T, Okada S et al. Preoperative chemoradiotherapy for esophageal cancer: factors associated with clinical response and postoperative complications. *Anticancer Res* 2009;29:2555-2562
189. Bonnetain F, Bouche O, Michel P et al. A comparative longitudinal quality of life study using the Spitzer quality of life index in a randomized multicenter phase III trial (FFCD 9102): chemoradiation followed by surgery compared with chemoradiation alone in locally advanced squamous resectable thoracic esophageal cancer. *Ann Oncol* 2006;17:827-834
190. Delektorskaya VV, Chemeris GY, Kononets PV et al. Clinical significance of hyperexpression of epidermal growth factor receptors (EGFR and HER-2) in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2009;148:241-245
191. Heath EI, Burtness BA, Heitmiller RF et al. Phase II evaluation of preoperative chemoradiation and postoperative adjuvant chemotherapy for squamous cell and adenocarcinoma of the esophagus. *J Clin Oncol* 2000;18:868-876
192. Radošević-Jelić Lj, Stanković V, Josifovski T et al. Preoperativna hemio-radioterapija u lečenju lokalno uznapredovalog karcinoma jednjaka. *Acta Chir Iug* 2009;56:83-89
193. Berger AC, Farma J, Scott WJ et al. Complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy in esophageal carcinoma is associated with significantly improved survival. *J Clin Oncol* 2005;23:4330-4337
194. Arsenijević T, Micev M, Nikolić V et al. Is there a correlation between molecular markers and response to neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced squamous cell esophageal cancer? *J BUON* 2012;17:706-711
195. Vallböhmer D, Lenz H-J. Predictive and prognostic molecular markers in outcome of esophageal cancer. *Dis Esophagus* 2006;19:425-432
196. Inada S, Koto T, Futami K et al. Evaluation of malignancy and the prognosis of esophageal cancer based on an immunohistochemical study (p53, E-cadherin, epidermal growth factor receptor). *Surg Today* 1999;29:493-503

8. BIOGRAFIJA AUTORA



Mr sci med dr Tatjana Arsenijević (rođ. Josifovski)

A. BIOGRAFSKI PODACI

- Rodjena 20.11.1978. godine u Beogradu
- Zaposlena u službi radioterapije na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije od novembra 2004.
- Obavlja poslove i radne zadatke lekara specijaliste radiologije/radioterapije

B. STRUČNA BIOGRAFIJA, DIPLOME I ZVANJA

Osnovne studije upisala školske 1997/98. godine, a diplomirala 30. septembra 2003. godine sa prosečnom ocenom 9,40

Specijalizacija: aprila 2007. godine upisala specijalističke studije iz radiologije a specijalistički ispit položila 21.04.2011. godine sa odličnom ocenom

Magisterijum: Školske 2003/04. upisala je poslediplomske magistarske studije iz radiologije na Medicinskom fakultetu u Beogradu, a 16.03.07. odbranila je magistarsku tezu pod nazivom „Analiza prognostičkih faktora u radikalnoj radioterapiji karcinoma prostate“, mentor Prof dr Ljiljana Radošević-Jelić, komentor Prof dr Cane Tulić

Istraživački rad: Autor je i koautor u više značajnih radova in extenso kao i u više radova u formi abstrakta. Od januara 2008. godine je u statusu istraživača saradnika na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije

Rad na Medicinskom fakultetu: Od 17.11.2011. u statusu je kliničkog asistenta na katedri za redovnu nastavu iz radiologije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu

Stručno usavršavanje: U okviru edukacije učestvovala na brojnim domaćim i međunarodnim kursovima iz oblasti onkologije i radioterapije

Članstvo u stručnim udruženjima: Član je radioterapijske sekcije Srpskog lekarskog društva, kao i međunarodne organizacije iz oblasti onkologije-ESTRO (European Society of Therapeutic Radiology and Oncology)

Znanje stranih jezika: Engleski i španski

9. PRILOZI

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Татјана Ј. Арсенијевић

број уписа _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Прогностички значај туморске регресије и рецептора за епидермални

фактор раста у болесника са узнапредовалим сквамозелуларним

карциномом једњака лечених неoadјувантном хемио-радиотерапијом“

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 06.02.2013.



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Татјана Ј. Арсенијевић

Број уписа _____

Студијски програм _____

Наслов рада „Прогностички значај туморске регресије и рецептора

за епидермални фактор раста у болесника са узнатредовалим

сквамозелуларним карциномом једњака лечених неoadјуватном

хемио-радиотерапијом“

Ментор Проф. др Љиљана Радошевић-Јелић

Потписани Татјана Ј. Арсенијевић

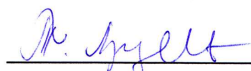
изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 06.02.2013.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Прогностички значај туморске регресије и рецептора за епидермални
фактор раста у болесника са узнапредовалим сквамозелуларним
карциномом једњака лечених неoadјувантном хемио-радиотерапијом“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 06.02.2013.

