

**Медицински Университет – София**

**Медицински факултет**

**Катедра по Хирургия**



**Д-р Ангел Николаев Арабаджиев**

**„Съвременни диагностични и терапевтични методи,  
подобряващи хирургичния онкологичен радикалитет  
при пациенти със стомашен карцином“**

Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен

**„ДОКТОР“**

**Научен ръководител:**

**Доц. Д-р Манол Бонев Соколов, ДМ, FEBC (EBSQ)**

София

2022 г.



**Използвани съкращения:**

**ИТМ** - индекс на телесна маса

**ИПП** - инхибитори на протонната помпа

**КС** - карцином на стомаха

**КАТ** - компютърно аксиална томография

**ЛВ** - лимфни възли

**НАХТ** - неoadювантна химиотерапия

**НЦЗИ** - национален център по здравна информация

**НРР** - национален раков регистър

**НГС** - назогастрална сонда

**ПБП** - преживяемост без прогресия

**СЛВ** - сентинелни лимфни възли

**СЗО** - световна здравна организация

**ХТ** – химиотерапия

**ЧОО** - честота на обективен отговор

**ЯМР** - ядрено – магнитен резонанс

**AGC** - advanced gastric cancer

**BMI** - индекс на телесно тегло

**СТ/СТ-scan** - компютърноаксиална томография

**DWIs** - дифузионно претеглено магнитно резонансно изображение

**EAC** - езофагеален аденокарцином

**EUS** - ендоскопска ултрасонография

**EGJ** - гастроезофагеална връзка

**ECF** - epirubicin, cisplatina, 5-Fu

**FNs** - флуоресцентни лимфни възли

**FI** - флуоресцентно изображение

**FDG** - 18 флуоро – 2 дезокси глюкоза

**IREE** - електронна ендоскопия с инфрачервени лъчи

**ICG** - индоцианиново зелено

**HRQL** - качество на живота свързано с болестта

**LG** - лапароскопска гастректомия

**LADG** - лапароскопски асистирана дистална гастректомия

**LWR** - лапароскопска клиновидна резекция

**MDCT** - мултидетекторна томография

**MAGIC** - Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy

**MRI** - магнитно – резонансна томография

**NIR** - близка инфрачервена светлина

**OG** - отворена гастректомия

**PET/CT(ПЕТ-СТ)** - Позитронно-емисионна томография

**SGE** - ехо с променлив градиент

**SNR** - съотношение на шум със сигнал

**SN** - сентинелни лимфни възли

**SGE** - 3D образ със специфичен градиент

## Съдържание:

1. Увод.....	8
2. Литературен обзор .....	9
2.1 Историческо развитие:.....	9
2.2. Епидемиология:.....	11
2.3. Рискови фактори:.....	13
2.3.2 Helicobacter pylori .....	19
2.3.3 Стомашна язва .....	21
2.3.4 Гастроезофагеална рефлуксна болест .....	21
2.3.5 Диета.....	22
2.3.6 Болестно затлъстяване .....	23
2.3.7 Пернициозна анемия .....	24
2.3.8 Кръвна група .....	24
2.3.9 Пол .....	24
2.4. Патологоанатомия:.....	25
2.4.1 Макроскопски .....	25
2.4.2 Микроскопски .....	27
2.5. Стадиране и стадиращи системи: .....	33
2.5.1 TNM/UICC Union for International Cancer Control - класификация .....	33
2.5.2 Позитронемисионната томография (PET-CT) .....	38
2.5.3 Магнитно – резонансна томография (MRI) .....	43
2.5.4 Ендоскопска ултрасонография (EUS) .....	47
2.5.5 Туморни маркери .....	49
2.6. Хирургично лечение .....	57
2.6.1 Обем на стомашната резекция.....	59
2.6.2 Комбинирани резекции .....	62
2.6.3 Палиативни операции .....	64
2.7. Лапароскопска срещу отворена хирургия за рак на стомаха. ....	67
2.7.1 Диагностична лапароскопия с перитонеален лаваж.....	74
2.8. ICG – навигирана лапароскопска хириргия .....	75
2.9. Лимфна дисекция при стомашен карцином .....	84
2.10. Неoadювантно лечение при стомашен карцином .....	90
2.10.1 Подобряване на резектабилността след неoadювантна химиотерапия. ....	90
2.10.2 Неoadювантна лъчетерапия .....	95

3. Основни изводи от литературния обзор .....	97
4. Цел, работна хипотеза и задачи .....	98
4.1 Цел .....	98
4.1 Работна хипотеза .....	98
4.2 Задачи .....	99
5. Материал .....	100
6. Методи .....	101
6.1 Антропометричен метод .....	101
6.2 Диагностични методи .....	101
6.2.1 Лабораторен метод .....	101
6.2.2 Цитологичен метод .....	102
6.2.3 Хистологичен метод .....	102
6.2.4 Апаратно – инструментални методи .....	103
6.3 Генетични методи .....	113
6.4 Статистически методи .....	117
6.5 Хирургични методи .....	119
6.5.1 Лапароксопски .....	119
6.5.2 Отворен метод (лапаротомия) .....	126
7. Резултати .....	129
<b>7.1 ЗАДАЧА 1:</b> Да се проучат генетични мутации при пациенти с карцином на стомаха и да се определи значението им за резектабилността. ....	129
<b>7.1.1 Резултати</b> .....	129
<b>7.1.2 Обсъждане</b> .....	141
<b>7.2 ЗАДАЧА 2:</b> Да се проучи връзката на индивидуалните особености – пол, възраст и индекс на телесна маса на пациентите с карцином на стомаха с резектабилността му .....	145
<b>7.2.1 Резултати</b> .....	145
<b>7.2.2 Обсъждане</b> .....	154
<b>7.3 ЗАДАЧА 3:</b> Да се установи има ли връзка между стойностите на някои основни маркери на възпалението – левкоцити, фибриноген и СУЕ с резектабилността на карцинома на стомаха. ....	156
<b>7.3.1 Резултати</b> .....	156
<b>7.3.2 Обсъждане</b> .....	159
<b>7.4 ЗАДАЧА 4:</b> Да се установи има ли връзка между стойностите на туморните маркери СЕА и СА 72-4 с резектабилността на карцинома на стомаха. ....	162
<b>7.4.1 Резултати</b> .....	162
<b>7.4.2 Обсъждане</b> .....	165

<b>7.5 ЗАДАЧА 5:</b> Да се оцени приложението на PET/CT в диагностиката и стадирането на карцинома на стомаха. ....	167
<b>7.5.1 Резултати</b> .....	167
<b>7.5.2 Обсъждане</b> .....	171
<b>7.6 ЗАДАЧА 6:</b> Да се определи значението на лапароскопията за предоперативното стадиране и резектабилността на стомашния карцином. ....	173
<b>7.6.1 Резултати</b> .....	173
<b>7.6.2 Обсъждане</b> .....	176
<b>7.7 ЗАДАЧА 7:</b> Да се създаде предоперативен алгоритъм подобряващ хирургичния радикалитет на стомашния карцином.....	178
8. Изводи .....	181
9. Приноси .....	182
9.1 Приноси с оригинален характер.....	182
9.2 Научно – теоретични .....	183
9.3 Научно – практически.....	183
9.4 Потвърдителни .....	183
10. Препоръки .....	184
11. Списък с научните публикации свързани с дисертационния труд.....	185
12. Списък на участията в научни форуми, свързани с темата на дисертационния труд.....	185
13. Библиография .....	186

## 1. Увод

Карциномът на стомаха заема пето място по честота и трето място по смъртност сред онкологичната патология в световен мащаб. Отличава се с висок малигнен потенциал – локално агресивен растеж и лимфогенно и хематогенно метастатизиране. Въпреки разработването на различни скринингови програми, появата на нови диагностични методи и оптимизиране на лечението, все още заболяването е с лоша прогноза и ниска преживяемост. 5-годишната преживяемост е ниска дори и при радикално оперираните, като варира от 85-95% за ранните стадии, до 15-20% за IIIA и IIIB стадий. 40% от пациентите пък са с нерезектабилен карцином в момента на диагностицирането. Тези стойности са подчертано по-лоши в България, където съществува тенденция за непълно предоперативно стадиране и извършване понякога на ненужни, диагностични лапаротимии. Ето защо, е необходимо подобряване на подхода към пациентите с карцином на стомаха, определяне на критерии за резектабилността на туморите и създаване на ясни алгоритми на поведение. През последните години проучванията в тази връзка непрекъснато се увеличават, като са насочени основно към установяване на генетични мутации, търсене на връзка между различни рискови фактори и значението им за диагностиката и лечението, определяне ролята на PET/CT и диагностичната лапароскопия, както и на неoadювантната химиотерапия, изучаване на различни детайли от хирургичното лечение с все по-значително навлизане на лапароскопския подход. Всичко това е застъпено в различна степен и в настоящия дисертационен труд.

## 2. Литературен обзор

### 2.1 Историческо развитие:

На 29 януари, 1881 професор Теодор Билрот в своята клиника във Виена, извършва първата парциална гастректомия за лечение на пилорен стомашен карцином, която представлява пробив, не само в стомашната, но и в коремната хирургия като цяло<sup>1</sup>.

Първият успешен случай на дистална гастректомия в Япония е извършена през 1897г., от професор Кондо в университетската болница в Токио (Stadtländer & Waterbor, 1999)<sup>2</sup>. Първата тотална гастректомия в Япония е докладвана от Miyake et al. през 1918г. Въз основа на факта, че лимфните метастази са най – честият вид на разпространение на рака, хирурзите в Япония постепенно се фокусират върху извършването на лимфаденектомията, което започва около 1940г., с цел премахване на всички лимфни колектори и по този начин отстраняване на метастазите. Kuru et al. подчертава значението при системно извършване на лимфаденектомия през 1935г<sup>3</sup>. Kajitani изтъква значението на широката (D2) лимфаденектомия за елиминиране на всички възможни възлови метастази<sup>4</sup>. Радикалната гастректомия с D2 лимфна дисекция е въведена като стандартната процедура за локално напреднал рак на стомаха (AGC) в Япония от 1961 г.<sup>5,6,7</sup>. Същото лечение се въвежда и в западните страни по повод AGC, след 15 – годишния опит на холандско проучване за D1 и D2 дисекции, което показва значително по – добра преживяемост след D2 за разлика от D1 лимфаденектомия. По отношение на смъртността следоперативно (48% спрямо 37%), локален рецидив (12% срещу 22%) и

регионален рецидив (13 срещу 19%)<sup>8</sup>. Към началото на 20-ти век, резекциите на стомаха, почти са достигнали сегашното си ниво. По това време успешната резекция е била само 20%, а смъртността 50% при пациенти със стомашен рак. През ноември 1881г., Woelfler, оперирайки мъж на 38 години с локално авансирал пилоричен карцином, инфилтриращ панкреаса е сметнал тумора за неоперабилен и е направил първата гастро-ентеро анастомоза, палиативно лечение, предвид невъзможността за резекция<sup>9</sup>. В продължение на 30 години след втората световна война, стомашните резекции се увеличават и се въвежда лимфната дисекция, също така, комбинираните резекции при напреднал стомашен карцином все по - често се извършват с успех. През 1980г. е била извършена операция на стомаха по повод ранен стомашен карцином.

Kitano et al.<sup>10</sup> през 1994г. първи докладват за лапароскопска асистирана дистална гастректомия с дуодено-гастро реконструкция по Билрот 1 по повод ранен стомашен карцином. Въпреки сравнително новото появяване на тези техники, съществува серия от доклади за пациенти оперирани по повод рак на стомаха с миниинвазивен достъп.

Миниинвазивният хирургичен подход за рак на стомаха се използва с цел подобряване на следоперативните резултати при пациенти подложени на гастректомия по повод стомашен карцином<sup>11</sup>. Подобрените следоперативни резултати включват намалена болка, нисък риск от усложнения, по - малко кръвозагуба, кратък болничен престой и бързо връщане към нормалните активности. Тъй като роботизираната хирургия е въведена за първи път в края на 90-те години, широкото прилагане и натрупването на опит продължават<sup>12,13</sup>. Освен това тя преодолява някои

от недостатъците на конвенционалната лапароскопска хирургия, като повишена точност, липса на тремор, по – голяма възможност за движение на инструментите – 7 степенна свобода и възможност за мащабиране на движенията<sup>14,15</sup>.

Първата роботизирана дистална гастректомия по повод стомашен карцином е докладвана през 2002 г. от Hashizume et al.<sup>16</sup>

## 2.2. Епидемиология:

Стомашния карцином остава един от най – често срещаните и смъртоносни ракови заболявания в света, особено при по възрастните мъже, кумулативният риск за развитие на стомашен рак от раждането до 74 годишна възраст е 1,87% при мъже и 0,79% при жените в световен мащаб. Най-засегната е възрастта над 55 г. като връх на заболеваемостта се регистрира между 65-74 г<sup>23</sup>.

Ракът на стомаха е по-разпространен сред мъжкия пол. В развитите страни ракът на стомаха е 2,2 пъти по-вероятно да бъде диагностициран при мъжете, отколкото при жените. В развиващите се страни това съотношение е 1,83. В 5 страни по света ракът на стомаха е с най-висока честота сред всички ракови заболявания при мъжете. Няма страна, в която стомашната неоплазма да е най-диагностициран при жените. Ракът на стомаха се диагностицира по-често в развитите страни. Средният процент на заболеваемост сред нациите с висок среден индекс на човешко развитие (HDI) е 20 на 100 000 за мъжете, докато средният процент сред страните с нисък среден HDI е 6,6 на 100 000<sup>17</sup>. Въз основа на данните от

GLOBOCAN 2018, ракът на стомаха е 5-тата най – често срещата неоплазма и 3-та причина за смърт при раковите заболявания, приблизително 783 000 смъртни случая през 2018г<sup>18</sup>.

Епидемиологичните данни за България от последните 20 г. показват задържане нивата на заболеваемостта между 19.9 и 24.4/100 000, което ни поставя сред страните със сравнително високо ниво на заболеваемост (между 13.1-23.5/100 000). През 2015 г. новозаболените от стомашен рак са 1795 (23.2/100 000), което представлява 22% от рака на храносмилателния тракт и 5.6% от общата онкологична заболеваемост. От тях в I стадий са 3.4%, във II стадий -10.8%, в III стадий-22.8%, в IV стадий-38.2% (24.8% от случаите не са стадирани!). През същата година в страната починалите от рак на стомаха са 1599, съставляващи 20.7/100 000 фактическа смъртност (9 % в структурата на общата онкологична смъртност - 9.4% за мъжете и 8.5% за жените)<sup>19,20,21,22,23,24,25</sup>.

Стомашния рак е типичен за възрастните хора, с най-висока честота след шестата декада. Преди 40 годишна възраст се среща в 2 – 5 % от случаите и много рядко преди 30 год. възраст. В тези възрастови групи съотношението мъже:жени е 1:1 и постепенно се променя, като достига 3.7:1 в по-напредналата възраст<sup>26</sup>. У нас съотношението мъже:жени е 1.72:1, а възрастовия пик е 60 -74 г.<sup>24</sup>. Най-често болните се оперират в III и IV стадий на болестта. За 2000 г. (по данни на НРР) само 1.3 % от оперираните случаи са били в I<sup>-ви</sup> клиничен стадий, 7.3 % са във II<sup>-ри</sup> клиничен стадий и 59.5 % от оперираните са в III-IV клиничен стадий. Висок е дела на нестадираните болни 31.9 % от оперираните<sup>22</sup>.

В глобален аспект епидемиологичните данни за последните 50 години очертават следните основни тенденции - постепенно снижаване нивото на заболяемостта, промяна в честотата на анатомичната локализация (покачване на локализациите в проксималните отдели на стомаха), лоша прогноза и ниска преживяемост дори след радикално оперираните в потенциално лечим стадий и мултимодален подход.

### 2.3. Рискови фактори:

#### 2.3.1 Генетични фактори

Клиничните резултати при карцинома на стомаха се подобряват, въпреки това прогнозата на пациентите с авансирал нерезектабилен карцином е много разочароваща. Амплификацията на гените на някои рецептори на тирозин кинази ERBB2, FGFR2, KRAS и MET, са свързани с прогресията на карцинома<sup>27</sup>. През последното десетилетие соматични мутации в редица гени бяха утвърдени като прогностични биомаркери за отговора към таргетна терапия при различни видове злокачествени заболявания. Ето защо, установяването им в туморната тъкан при пациенти с рак на стомаха би могло да послужи като предиктор за резектабилността му и подобряване на радикалността при хирургичните интервенции. Доказана връзка с карцином на стомаха имат някои от следните гени: PIK3CA (3q26), EGFR (7p11), CDK6 (7q21), MET (7q31), GATA4 (8p23), FGFR1 (8p11), MYC (8q24), PTP4A3 (8q24), FGFR2 (10q26), CCND1 (11q13), KRAS (12p12), KLF5 (13q22), ERBB2 (17q12), TOP2A (17q21), GATA6 (18q11) и CCNE1 (19q12). Тези гени са свързани с появата на тумора, неговото развитие и метастазиране. Други дават информация за

прогнозата на пациентите, мутациите в някой от изброените гени са подходящи мишени за таргетна терапия.

### **PIK3CA**

PIK3CA е p110 $\alpha$ , каталитична субединица, той е 34 kb локализирана в 3q26.3, която се състои от 20 екзона кодираща 1065 аминокиселини произвеждащи протеин с размер 124 kDa. Генната амплификация, делеция и наскоро откритата соматична missense мутация в PIK3CA са установени в много типове карциноми, включително и в карцинома на колона 32%, мозъка 23% и стомаха 25%<sup>28</sup>. Продукта на този ген представлява хетеродимерна липидна киназа, съставена от каталитична и регулаторна субединица, кодирани от различни гени. PIK3CA е важен регулатор за клетъчния разтеж, трансформация, адхезия, апоптоза, оцеляване и смърт.

### **EGFR (7p11)**

EGFR генът е локализиран 7p11 и кодира рецептор с размери 170 kDa намиращ се на клетъчната мембрана под формата на инактивни мономери. След като лиганда се свърже с извънклетъчната част на рецептора, той преминава през конформационни промени, димеризира се и става автофосфолириран в ключов тирозиневн участък в извънклетъчния тирозинкиназен домен. Това води до активиране на каскади от реакции, които контролират клетъчното оцеляване, инхибиция на апоптоза и пролиферация<sup>29</sup>.

EGFR свръхекспресията е описана в много човешки тумори включително и стомашния карцином. Промени при активирането на EGFR се появяват избирателно при стомашен карцином от дифузен субтип и са асоциирани с размера на тумора<sup>30</sup>.

### **CDK6 (7q21)**

Протеина кодиран от този ген е част от семейството на циклин зависимата протеин киназа (CDK). Групата на CDK са много близки до продуктите *Saccharomyces cerevisiae cdc28* и *Schizosaccharomyces pombe cdc2*, и са важни регулатори на прогресията на клетъчния цикъл. Тази киназа е каталитична субединица от протеин киназния комплекс, които отговаря за клетъчния цикъл G1 и G1/ S прехода. Експресията на този ген е стимулирана при някои типове рак<sup>31</sup>.

### **MET (7q31)**

MET гена е локализиран на 7q31. Той е протоонкоген който кодира трансмембранен тирозинкиназен рецептор и регулира клетъчната каскада отговорна за клетъчната пролиферация<sup>32</sup>. Аберантната активация на MET (7q31) се наблюдава в група карциноми като недребноклетъчен белодробен карцином и стомашен карцином<sup>33</sup>. MET амплификацията се среща често в малигнените тумори и се асоциира с лоша прогноза<sup>34</sup>.

### **GATA4 (8p23)**

GATA е транскрипционен фактор способен да стопира развитието на различни типове човешки неоплазми. Епигенетичната активация в GATA4(GATA5) чрез метилиране на CpG откъси е често ранно събитие по време на стомашната карциногенеза и е значително свързана с инфекцията с *H. pylori*. Следователно GATA4/ GATA5 могат евентуално да играят роля на супресорни гени<sup>35,36</sup>.

### **FGFR1 (8p11)**

Рецептора за фибробластен растежен фактор (FGFR1) е част от семейството на рецепторните тирозин кинази чието активиране чрез амплификация, мутация или транслокация води до пролиферация на туморните клетки и тяхното оцеляване в много карциноми<sup>37</sup>.

### **MYC (8q24)**

MYC при хората е онкоген участващ в регулацията на клетъчния цикъл, в стопирането на клетъчния растеж, клетъчната адхезия, метаболизъм, рибозомна биогенеза, протеинна синтеза и митохондриална функция. Той е описан като ключов елемент за няколко канцерогенни процеса при човека<sup>38</sup>. MYC генът е локализиран на хромозома 8 на ивица 8q24.1 и кодира ядрен фосфопротеин<sup>39</sup>. Дерегулацията на този ген се цитира като основно събитие в патогенезата на неоплазми намерени 15 до 30% от неопластичните случаи при човека<sup>40</sup>.

Скорошни проучвания са свързали MYC онкопротеина като медиатор на геномната нестабилност тъй като той индуцира реактивни кислородни радикали<sup>41</sup>. MYC гена може да допринесе за подобряване на терапията, диагностиката и прогнозата при болни със стомашен аденокарцином.

### **PTP4A3 (8q24)**

Този ген кодира член от протеин - тирозин фосфатазно семейство. Те са клетъчно сигнални молекули, които играят регулаторна роля в множество клетъчни процеси. Протеинът, който се кодира от този ген, може да увеличи клетъчната пролиферация. Свършекспресията на PTP4A3 се свързва с метастазирането на тумора. Много проучвания са доказали, че

този протеин тирозин фосфатаза тип 4 (PTP4A3, PRL-3) играе главна роля в метастатичния процес в стомашния карцином особено в локалните лимфни възли<sup>42</sup>.

### **FGFR2 (10q26)**

Fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) е член от FGFR рецепторното тирозин киназно семейство, което се състои от 4 рецептора и 23 лиганда<sup>43</sup>. Лигандното свързване води до FGFR 2 димеризация, автофосфорилация и активиране на сигнални компоненти, включващи Akt и Erk кинази. FGFR 2 е била намерена като амплифицирана ДНК последователност в клетките от стомашен карцином от линия Kat0III<sup>44,45</sup>.

### **CCND1 (11q13)**

Протеина кодиран от този ген принадлежи към циклиновото семейство. Циклините функционират като регулатори на (CDK) киназите. Този протеин е доказан, че взаимодейства с туморсупресорния протеин Rb. Мутациите, амплификациите и свръхекспресията на този ген, което променя прогресията на клетъчния цикъл се наблюдава често в множество тумори и може да допринесе за туморогенезата<sup>46</sup>.

### **KRAS (12p12)**

Амплификацията на KRAS е установена при стомашния карцином. Допълнителни проучвания използващи голяма кохорта от проби от стомашен карцином са нужни за да се определи диагностичната и терапевтична приложение<sup>47</sup>.

### **KLF5 (13q22)**

Този ген кодира член от Kruppel-like factor подгрупа от zinc finger протеините. Кодирания протеин е транскрипционен активатор който се свързва директно за специфичен мотив в таргетните гени. Този протеин участва в множество различни сигнални каскади и се регулира от пост транслационни модификации. Може да участва както в иницирането така и в подтискането на клетъчната пролиферация. Експресията на този ген може да е промена в множество неоплазми и сърдечно съдови заболявания. Гените KLF5 и KLF12, локализирани в хромозома 13q22 са аберантно експресирани в множество неоплазми на храносмилателната система, като ESCC, карцином на стомаха и карцином на дебелото черво<sup>48,49</sup>.

### **ERBB2 (17q12)**

Установено е, че хромозомната амплификация на 17q региона е честа находка при карцином на стомаха, но таргетните гени на 17q амплификацията не са били известни до сега<sup>50,51</sup>. Изолзвайки сравнителна геномна хибридизация критичния регион на тази амплификация беше установен като 17q12. Амплификацията при 17q12 се асоциира с няколко неоплазми като тези на гърдата, стомаха и панкреасния карциноми, както и неврофибробластома<sup>52-57</sup>. При стомашен карцином процента на амплификация и свръхекспресията на ERBB2 обикновено варира между 8% и 18%<sup>58-60</sup>.

### **GATA6 (18q11)**

Малки региони на хромозома 8p и 18q са фокално амплифицирани в 18 до 22% от стомашния карцином и карцинома на гастроезофагеалната връзка<sup>61</sup>. GATA4/ GATA6 регулират различни епители от храносмилателната система<sup>62-65</sup>. Техните гени са амплифицирани в голяма част от стомашния карцином и карцинома на гастроезофагеалната връзка и често свръхекспресирани дори и при липса на генна амплификация<sup>66,67</sup>. Измежду 39 клетъчни линии от стомашен карцином GATA6 свръхекспресията разкрива болестна подгрупа, която експресира много гени като цяло. Вероятно представлява GATA6 регулаторната функция.

### **CCNE1 (19q12)**

Амплификацията при 19q12 се наблюдава при множество типове тумори, докато циклин E1(CCNE1) се счита за ключов онкоген в този ампликон. Чрез извършен cDNA microarray систематично се характеризират моделите на генна експресия от стомашен карцином и нетуморни проби. Намерен е cluster от 5 корегулирани гени, локализирани на хромозома 19q12 включително (CCNE1). Доказано е, че 19q12 генния формат е експресиран във висока степен в стомашен тумор сравнен с нетуморни стомашни проби<sup>68</sup>.

#### **2.3.2 Helicobacter pylori**

Основен рисков фактор, асоцииран с рака на стомаха е бактерията *H. pylori*. През 2005 г. австралийските изследователи Бари Маршал и Робин Уорън бяха удостоени с Нобелова награда за медицина за откриването на бактерията *H. Pylori*<sup>69</sup>. Преди откриването и се е предполагало, че начинът

на живот и стресът са основните рискови фактори за пептична язва. През 1985г. Маршал умишлено се заразява с бактерията, за да докаже, че причинява остър гастрит. Благодарение на тяхната работа вече знаем, че до 80% от стомашните язви са причинени от *H. pylori*<sup>70</sup>.

Предполага се, че гастритът, причинен от бактерията, предизвиква повечето ракови заболявания на стомаха. 90% от случаите са свързани с бактерията с изключение на кардиалния карцином<sup>71</sup>. Всъщност е установено, че *H. pylori* увеличава риска за рак на стомаха с 5,9 пъти в рамките на десет години от установяване на инфекцията. Доказано е, че IL-10 и IL-17, полиморфизмите, свързани с рак на стомаха, взаимодействат с инфекция с *H. pylori*<sup>72</sup>.

Междувременно, последните проучвания показват, че подтипът на кардията има две различни етиологии: едната наподобява аденокарцином на хранопровода (ЕАС), най-често отрицателна на *H. pylori*, а другата наподобява некардиален рак по етиология<sup>71</sup>.

Докато инфекцията с *H. pylori* увеличава риска от рак на стомаха, някои автори предполагат, че предпазва от гастро-езофагеален рефлукс и езофагеален аденокарцином<sup>73</sup>. Тъй като бактерията предизвиква корпусния (некардиален) гастрит, известно е, че намалява киселинната секреция в проксималната (кардиална) част на стомаха, като по този начин намалява гастрита в хранопровода и кардията. Тъй като намалява риска от възпаление на хранопровода, доказано е също, че *H. pylori* предпазва от кардио-стомашен рак<sup>71,74</sup>. Освен това инфекцията с *H. pylori* се свързва с по-нисък риск от астма и затлъстяване<sup>74</sup>.

Интересен факт от скорошни проучвания е, че унищожаването на *H. pylori*, който е намалил честотата на некардиалния стомашен рак в развития свят, всъщност е увеличил честотата на кардиалния тип рак. Съединените щати и Обединеното кралство имат най-висок дял на карцином на кардията спрямо стомашния рак, вероятно поради ерадикацията на бактерията *H. Pylori*<sup>75</sup>. Проучване в Хонг Конг при 63 397 случая показва, че дългосрочната употреба на инхибитори на протонната помпа (ИПП) е свързана с 2,4-кратно увеличение на риска от рак на стомаха при пациенти, заразени с *H. pylori*, които са получили ерадикационна терапия. Рискът от рак на стомаха се увеличава в зависимост от дозата и продължителността при употребата на ИПП<sup>76</sup>.

### 2.3.3 Стомашна язва

Единствения сигурен и доказан етиологичен причинител за карцином на стомаха е стомашната язва<sup>77,78</sup>. В голяма група от 57 936 шведски пациенти беше установено, че рискът от рак на стомаха е почти два пъти по-висок от очаквания процент сред пациентите със стомашни язви и има 40% намаление на риска от рак на стомаха сред пациентите с язва на дванадесетопръстника<sup>77</sup>. Ерадикацията на *Helicobacter pylori* при пациенти с язва на стомаха може да намали риска от развитие на карцином<sup>79</sup>.

### 2.3.4 Гастроезофагеална рефлуксна болест

Няколко проучвания съобщават за значителни връзки между ГЕРБ и кардиалния стомашен рак<sup>80,81</sup>. Кардиалният рак на стомаха се свързва положително както с тежка стомашна атрофия, така и с чести симптоми на ГЕРБ<sup>82</sup>. В езофагогастралната връзка съществуват множество различни

пътища на туморогенеза, включително един, при който туморите възникват от диспластична чревна метаплазия, и един, потенциално включващ дисплазия на лигавицата от кардиален тип<sup>83</sup>. Честотата на кардиалната неоплазма свързана с рефлукс непрекъснато се увеличава в сравнение с кардиалния рак следствие на *H. pylori*. Тенденциите на честотата на свързания с рефлукс кардиален рак и аденокарцинома на хранопровода са много сходни, което предполага, че тези два рака споделят сходна етиология и патофизиологичен процес<sup>84</sup>.

### 2.3.5 Диета

Доказано е, че поглъщането на сол увеличава гастрита и канцерогенните ефекти на известни стомашни канцерогени като N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидин (MNNG)<sup>85</sup>. Предполага се, че солта ерозира лигавичната бариера на стомаха, като по този начин води до възпаление. Културите, чиято диета е богата на сол и мариновани храни, като японците, показват по-висок процент на рак на стомаха. Японските имигранти в Съединените щати, които са асимилирани и консумират западни храни, показват значително по-ниска честота на рак на стомаха в сравнение с тези, които не са променили диетата си<sup>86</sup>.

Консервираните меса са богати на N-нитрозо съединения, които могат да предизвикат подобен ефект в организма. Червеното месо, от животни хранени със зърнени храни, е особено богато на наситени мазнини и ниско съдържание на защитни мазнини като омега-3, което допринася за неговите възпалителни процеси и по този начин увеличава риска от рак на стомаха.

Междувременно плодовете и зеленчуците са богати на каротеноиди, фолиева киселина, фитохимикали и витамин С, които помагат за модулиране на метаболизиращите ксенобиотични ензими по време на храносмилането. Плодовете и зеленчуците също съдържат множество антиоксиданти, които предотвратяват метаболитните увреждания. Витамин С, известен още като аскорбинова киселина, е мощен антиоксидант, намиращ се във високи концентрации в цитрусовите плодове. Проучванията случай - контрол установяват, че по-високият прием на плодове и зеленчуци е свързан с 37% по-нисък риск от рак на стомаха<sup>87</sup>. Недietetични източници на антиоксиданти като зелен чай, добавки от витамин А, С, Е и селен показват смесени резултати за предотвратяване рака на стомаха<sup>88</sup>.

### 2.3.6 Болестно затлъстяване

Статистически мета-анализ от цял свят установи, че при пациенти с индекс на телесна маса над 25 kg/m<sup>2</sup>, риска за развитие на рак се повишава с 1,13<sup>89</sup>. Влиянието на рисковия фактор се увеличава с нарастване на индекса на телесна маса (BMI). Затлъстяването е особено силен предразполагащ фактор за мъжете и неазиатците. Затлъстяването може да предизвика възпаление на стомашната лигавица чрез тумор некрозис фактор-α (TNF-α), интерлевкин-6 (IL-6) и моноцитен хемоатрактант протеин-1 (MCP-1)<sup>90</sup>. Тези с диета със силно възпалителни храни, като диета с високо съдържание на месо и ниско съдържание на плодове и зеленчуци, също имат по-висок риск за развитие на карцином на стомаха вследствие от наднорменото тегло<sup>88,91</sup>.

### 2.3.7 Пернициозна анемия

Проучванията установяват, че пациенти с пернициозна анемия имат 6,9% шанс да развият рак на стомаха, особено некардиален рак, което е повече от пет пъти по-голям от риска при общото население<sup>92</sup>. Връзката между нарушенията остава неизвестна. Хроничният гастрит, причинен от инфекция с *H. pylori*, може да доведе до дългосрочна употреба на ИПП, които намаляват абсорбцията на B12 и по този начин причиняват пернициозна анемия. Хората с злокачествена анемия и рак на стомаха споделят за много рискови фактори, като консумация на алкохол и тютюнопушене<sup>93</sup>.

### 2.3.8 Кръвна група

Връзката между рак на стомаха и кръвна група А е докладвана за първи път през 1953 г. от Aird et al.<sup>94</sup>. Многобройни проучвания показват, че кръвна група А е свързана с по-висок риск от рак на стомаха. В тази група се наблюдава и увеличение на пернициозната анемия<sup>95,96</sup>. Голямо проспективно популационно проучване в Скандинавия потвърди, че кръвна група А е свързана с по-висок риск от рак на стомаха, и че кръвна група О е свързана с по-висок риск от пептични язви<sup>96</sup>.

### 2.3.9 Пол

В процентно съотношение честотата на карцинома на стомаха е значително по-висока при мъжете за разлика от жените<sup>97,98</sup>. Възможно обяснение може да бъде, че защитният ефект на естрогена може да намали риска от рак на стомаха при жените. Други причини, като различия в диетата и професионалната експозиция, могат да допринесат за

повишена заболяемост от рак на стомаха при мъжете<sup>99</sup>. Рискът от рак на стомаха се понижава чрез забавена менопауза и повишена плодовитост. Повишен риск може да се наблюдава при антиестрогенни лекарства, например тамоксифен<sup>100,101</sup>. След менопаузата честотата на стомашен рак при жените е подобна на тази при мъжете, но с 10- до 15-годишен период на закъснение<sup>99</sup>.

#### 2.4. Патологоанатомия:

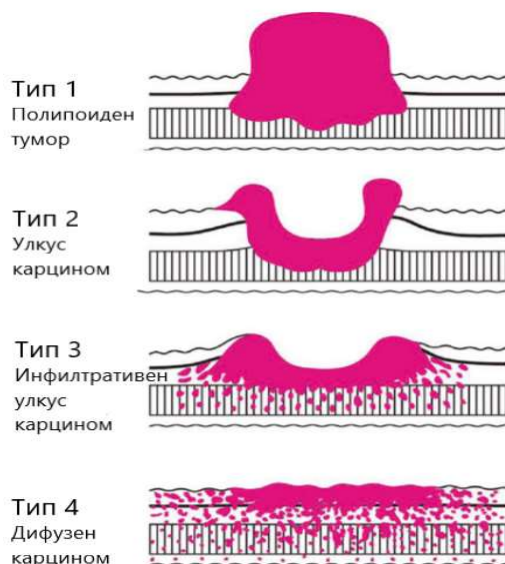
Аденокарцинома съставлява 90% от злокачествените стомашни тумори, 5% заема стомашния лимфом и останалите проценти се изпълват от мезенхимни и невроендокринни малигноми. Аденокарциномите на стомаха се разпространява по четири начина – лимфогенно, прорастване по съседство, чрез имплантационни метастази и хематогенно.

##### 2.4.1 Макроскопски

За да се оптимизира комуникацията между хирурзи, ендоскописти, рентгенолози и патолози, и да се улесни подходящата стратегия за лечение, в клиничната практика са въведени класификации, определящи характеристиката на тумора. Макроскопския вид на напредналия стомашен карцином е описан с помощта на класификацията на Borrmann от 1926 г.<sup>102</sup> - тип I: полипоиден тумор на широка основа и без язви; тип II: язви с остър ръб и повдигнати ръбове; тип III: язвен тумор и дифузно инфилтриращ заобикалящата стена и тип IV: дифузно инфилтриращ предимно без язви. За ранен стомашен рак се използва Парижката класификация<sup>103</sup>- (тип 0-I: полипозен растеж подкатегоризиран в 0-Ip за педункулиран растеж и 0-Ia за приседнал растеж); тип 0-II: неполипоиден

растеж (подкатегоризиран в тип 0-IIa за елевиран тип растеж, тип 0-IIb за плосък растеж и тип 0-IIc за депресивен тип растеж) и тип 0-III: за вдлъбнат растеж.

Описана е връзка между макроскопския модел на растеж (тип Borrmann)(Фиг. 1), местоположението на тумора в стомаха, пола, възрастта при диагностициране, хистологичния подтип и преживяемостта. Полипозните и улцерирани тумори с издигнати ръбове (типове Borrmann I и II) най-често са от интестинален тип и се намират в антрума на възрастния мъж, докато дифузно инфилтриращите тумори (типове на Borrmann III и IV) са най-често дифузен тип в проксималния стомах при жени на средна възраст<sup>104</sup>. Доказано е, че типът Borrmann е независим прогностичен фактор при СК, като пациентите с тип IV имат най-ниска преживяемост<sup>105</sup>.



Фигура 1. Макроскопска класификация на R.Borrmann.

## 2.4.2 Микроскопски

Стомашния рак хистологично е много хетерогенен, повече от 50% от неоплазмите са многообразни и е доказано, че променливостта на хистологичния вид се увеличава с увеличаване на дълбочината на инфилтрация в стената<sup>104</sup>. В резултат на това морфологично разнообразие се застъпват редица различни системи за класификация: класифициране по Lauren, Ming, Световната здравна организация (СЗО), Nakamura et al., Mulligan, Goseki et al. и Карнейро, както и японската класификация.

### 2.4.2.1 Класификация по Lauren

Класификацията по Lauren създадена през 1951 г. и публикувана в 1965г., е най-използваната в световната практика, поради високата ѝ прогностичната достоверност. Има доказано практическо значение в оперативно-тактически аспект при определянето на онкологично съобразените граници на резекцията. Според Lauren стомашният рак се дели на два субтипа – дифузен и интестинален, като всеки от тях има специфични патологоанатомични, епидемиологични, етиологични и прогностични характеристики<sup>106</sup>. Морфологичните особености на интестиналния субтип включват добре развита жлезна структура, изразена интестинална метаплазия и дифузна възпалителна клетъчна реакция. Туморите са добре отграничени и описанието на макроскопските граници по-често е достоверно, като хистологичното разпространение извън описаните граници обикновено е няколко милиметра. По-типично за този субтип е локализацията в дисталните стомашни отдели, при пациенти в напреднала възраст с дълга предракова фаза (най-често атрофичен

гастрит) на болестта и асоциация с *H. pylori*. Дифузния субтип се характеризира с разпръснати клетки или клетъчни групи, слабо свързани клетъчни снопове при солидните структури, изразено клетъчно слузообразуване, с неравномерно разполагане на слузта в цитоплазмата. Границите при този тип карциноми не са добре очертани макроскопски и по правило ангажират по-обширно и съседна на видимата граница тъкан, поради което макроскопската оценка е по-несигурна в сравнение с интестиналния субтип. Хистологично установимото разпространение по-често е няколко сантиметра извън макроскопски отчетените граници тумор/здрава тъкан. Туморите от дифузния субтип имат по-лоша прогноза, по-често дават лимфни и интраперитонеални метастази. Митотичният им индекс е по-нисък от този на интестиналният субтип. Те могат да се развият във всяка част на стомаха, но са по-чести в зоната на кардията, типични са за по-младите пациенти, без клинични данни за предракова фаза на заболяването и предшестваща интестинална метаплазия. Всеки от споменатите два субтипа тумори има различна степен на диференциация, като е възможно в един тумор да се открият смесени зони с интестинален и дифузен вариант, като в тези случаи класифицирането се базира на преобладаващия субтип. Докато интестиналният субтип се среща по-често в регионите с висока заболеваемост от стомашен рак, то дифузния субтип е с константна честота сред човешката популация<sup>107</sup>.

#### *2.4.2.2 Класификация по СЗО*

Класификацията на Световната здравна организация (СЗО), издадена през 2010 г., изглежда е най-подробната сред всички патохистологични класификационни системи. Забележително е, че класификацията на СЗО включва не само аденокарцинома на стомаха, но и всички други видове

стомашни тумори с по-ниска честота (Табл. 1)<sup>108</sup>. Типът стомашен аденокарцином е разделен на няколко подгрупи, включително папиларен, тубулен, муцинозен и смесен карцином, който може да се сравни с неопределения тип в класификацията на Laurén. Слабо кохезивният тип карцином включва пръстеновидния карцином. Всички други класифицирани стомашни аденокарциноми могат да бъдат определени като необичайни поради незначителното им клинично значение. В класификацията на СЗО, най-често срещаният тип рак на стомаха е тубулният аденокарцином, следван от папиларния и муцинозния тип. Пръстеновидно-клетъчният карцином представлява приблизително 10% от рака на стомаха и се определя от наличието на пръстеновидни клетки в над 50% от тумора<sup>108-111</sup>. Прогнозата на пръстеновидния карцином е противоречива. Повечето автори описват по-лоша прогноза за пръстеновидния карцином в сравнение с други подтипове рак на стомаха<sup>112,113</sup>. Последните проучвания показват, че пръстеновидният карцином на стомаха не се различава по прогноза от другите видове рак на стомаха<sup>114</sup>. Освен това е доказано, че карциномът на пръстеновидните клетки има неравномерно поглъщане на 18F-флуордезоксиглюкоза по време на позитронно-емисионна томография(ПЕТ) и ниска метаболитна активност; следователно, този тумор, както и всички метастази не могат да бъдат открити надеждно<sup>115</sup>. Пациентите с папиларен аденокарцином имат лоша прогноза, склонност към метастатично заболяване, по-висока възраст при диагностициране и локализация в горната трета на стомаха<sup>116</sup>. Друго проучване, което използва предишната класификация на СЗО, установи, че слабо диференцираните и муцинозни аденокарциноми имат

по-лоша прогноза от папиларния и тубуларния подтип. В същото проучване класификацията на СЗО изглежда е независим прогностичен фактор<sup>117</sup>. Kawamura et al<sup>118</sup> също откриват лоша прогноза, свързана с муцинозен аденокарцином, което предполага връзка с напреднал стадий и метастатично заболяване. Въпреки това, за разлика от повечето често срещани видове стомашни злокачествени заболявания, класификацията на СЗО се използва по-широко за изследвания на редки видове рак на стомаха. Тъй като предишната класификация на СЗО беше подновена през 2010 г., се очаква в близко бъдеще да бъдат проведени повече проучвания за рак на стомаха, които се отнасят до най-новата класификация на СЗО.

Индикация за значението на класификацията на СЗО може да се види в подобна японска класификационна система(Табл.1). Въпреки че японската класификация разделя често срещаните типове стомашен аденокарцином на допълнителни подтипове (напр. тубулният аденокарцином е разделен на добре диференциран и умерено диференциран аденокарцином), зависимостта от класификационната система на СЗО е очевидна<sup>119</sup>. Това конкретно подразделение на тубулния аденокарцином се основава на разликите в скоростта на субмукозната инвазия, метастазите в лимфните възли и размера на лезиите<sup>120</sup>.

<u>Laurén classification</u>	<u>World Health Organization classification</u>
Интестинален тип	Папиларен аденокарцином Тубуларен аденокарцином Муцинозен аденокарцином
Дифузен тип	Аденокарцином тип пръстен с камък или други слабо кохезивни карциноми
Неопределен тип	Смесен карцином Аденосквамозен карцином Плоскоклетъчен карцином Хепатоиден аденокарцином Карцином с лимфоидна строма Хориокарцином Карциносарком Париетален клетъчен карцином Злокачествен рабдоиден тумор Мукоепидермоиден карцином Клетъчен карцином на Панет Недиференциран карцином Смесен адено-невроендокринен карцином Тумор на ендодермалния синус Ембрионален карцином Чист тумор на жълтъчната торбичка на стомаха Онкоцитен аденокарцином

Таблица 1.

### 2.4.2.3 Други класификации

Други по-известни класификации са тази на S. Ming от 1977 г.<sup>121</sup>, която разделя карциномите на стомаха на два типа според начина на инфилтрация на стомашната стена – експанзивен и инфилтративен (аналогични на интестиналния и дифузия тип по Laurén). При класификацията на Goseki от 1992 г.<sup>122</sup>, стомашните карциноми се разделят на четири типа според развитието на жлезистите им структури и наличието на муцин в цитоплазмата. I<sup>ba</sup> група са характеризира с добре развита жлезна структура и бедна на муцин цитоплазма. II<sup>pa</sup> група също има добре развита жлезна структура, но цитоплазмата е богата на муцин. III<sup>ta</sup> група е със слабо развита жлезна структура и цитоплазмата бедна на муцин. IV<sup>ta</sup> група има слабо развита жлезна структура и цитоплазма богата на муцин.

Ранния стомашен карцином се определя като ограничен в мукозата или субмукозата раков процес. През 1971 г. Японското Ендоскопско Общество предлага класификация на тези тумори в три главни типа – I-полипозен (екзофитен), II-интрамукозен и III-язвен. Впоследствие II-ри тип е разделен на три субтипа – изпъкваща плака, равна плака, разязвена плака<sup>123</sup>. Интрамукозния тип метастазира лимфогенно в по-малко от 5% от случаите, докато субмукозния в 20 %. Пет годишната преживяемост след хирургично лечение на ранния стомашен рак е около 90%, а 15-годишната преживяемост е около 75%<sup>124</sup>.

## 2.5. Стадиране и стадиращи системи:

Успеха при лечение на стомашния карцином зависи от правилното предоперативно и адекватното следоперативно стадиране.

След поставяне на диагнозата стомашен рак, предоперативното стадиране, цели определяне инвазията на тумора, регионалните и далечните метастази и играе решаваща роля в процеса на вземане на решение за или против първична резекция или неoadювантно лечение. Само ако се очаква пълна (UICC R0) резекция, прогнозата на пациента може да се подобри чрез операция. При неадекватно стадиране и нерезектабилни тумори, някои пациенти се подлагат на ненужни, нерадикални оперативни интервенции, които нямат терапевтичен ефект. Въпреки това, в зависимост от стадия на заболяването се прилагат мултимодални терапевтични схеми, които подобряват резектабилността или удължават преживяемостта без хирургично лечение при иноперабилните пациенти.

### 2.5.1 TNM/UICC Union for International Cancer Control - класификация

The tumor-node-metastasis (TNM) класификацията от the Union for International Cancer Control (UICC) и the American Joint Committee on Cancer (AJCC) е световния стандарт за стадиране при стомашен карцином<sup>125,126</sup>. AJCC и UICC си сътрудничат съвместно при периодични ревизии, което води до 6<sup>-то</sup> издание през 2002 г., 7<sup>-то</sup> издание през 2010 г.<sup>127</sup> и 8<sup>-то</sup> издание през 2017 г.<sup>128,129</sup>. След публикуването и прилагането на 7<sup>-то</sup> издание на TNM стадиращата система през 2010 г., бяха публикувани много

проучвания, оценяващи тази класификация<sup>130-134</sup>. Въпреки че повечето автори одобряват прогностична стойност на 7<sup>-то</sup> издание, съществуват някои ограничения в TNM стадиращата система. Има съмнения, че ракът на езофагогастралната връзка (EGJ), особено Siewert тип 2 и 3, трябва да бъде класифициран от системата за стадиране на стомаха<sup>135</sup>.

Последното публикувано издание е 8<sup>-то</sup> по AJCC стадираща система<sup>136,137</sup>. Новата класификация предоставя по-изчерпателни възможности, включително клинични (cTNM), пост-неоадювантни (ypTNM) и патологични (pTNM) класификации, за етапно групиране на пациенти с рак на стомаха при различни обстоятелства. В 8<sup>-то</sup> издание на TNM системата за стадиране, дефинициите на pT и pN стадии не са коригирани. Стадийните групи са прекласифицирани. В новата система за стадиране, pN3 е подразделен на pN3a (7–15 позитивни регионални лимфни възли) и pN3b (>15 позитивни регионални лимфни възли) в стадийни групи, а pT1N3b и pT2N3b вече са включени в стадий IIIB. Освен това pT3N3b е включен в стадий IIIC. Също така има няколко промени в групирането на етапите на TNM. Например, pT4bN0 и pT4aN2 са понижени от стадий IIIB в стадий IIIA, а pT4aN3a и pT4bN2 са понижени от стадий IIIC в стадий IIIB(фиг.2). Тези модификации се основават главно на база данни от азиатски държави и Запада, като повечето случаи са събрани от Япония и Корея (41,8% и 43,3% съответно), а делът на данните, събрани от Китай, е много по-нисък<sup>138</sup>.

### A AJCC 7th TNM staging system

### B AJCC 8th TNM staging system

Stage	T	N	M	No.		T	N	M	No.	Stage
0	Tis	N0	M0	0		Tis	N0	M0	0	0
IA (n=22)	T1	N0	M0	22	No changes →	T1	N0	M0	22	IA (n=22)
IB (n=62)	T1	N1	M0	2		T1	N1	M0	2	IB (n=62)
	T2	N0	M0	60		T2	N0	M0	60	
IIA (n=19)	T1	N2	M0	6		T1	N2	M0	6	IIA (n=19)
	T2	N1	M0	13		T2	N1	M0	13	
	T3	N0	M0	0		T3	N0	M0	0	
IIIB (n=73)	T1	N3a, 3b	M0	0		T1	N3a	M0	0	IIIB (n=73)
	T2	N2	M0	7		T2	N2	M0	7	
	T3	N1	M0	0		T3	N1	M0	0	
	T4a	N0	M0	66		T4a	N0	M0	66	
IIIA (n=84)	T2	N3a, 3b	M0	5		T2	N3a	M0	4	IIIA (n=185)
	T3	N2	M0	0		T3	N2	M0	0	
	T4a	N1	M0	79		T4a	N1	M0	79	
						T4a	N2	M0	94	
						T4b	N0	M0	8	
IIIB (n=117)	T3	N3a, 3b	M0	0		T1	N3b	M0	0	IIIB (n=89)
	T4a	N2	M0	94		T2	N3b	M0	1	
	T4b	N0	M0	8		T3	N3a	M0	0	
	T4b	N1	M0	15		T4a	N3a	M0	53	
						T4b	N1	M0	15	
						T4b	N2	M0	20	
IIIC (n=116)	T4a	N3a, 3b	M0	72		T3	N3b	M0	0	IIIC (n=43)
	T4b	N2	M0	20		T4a	N3b	M0	19	
	T4b	N3a, 3b	M0	24		T4b	N3a	M0	20	
						T4b	N3b	M0	4	
IV (n=47)	Any T	Any N	M1	47		Any T	Any N	M1	47	IV (n=47)

Фигура 2.

T	
Tx	Първичният тумор не може да бъде определен
T0	Без данни за първичен тумор
T1	Тумор ограничен в мукоза (M) и субмукоза (SM)
T1a	Тумор ограничен в мукозата (M)
T1b	Тумор ограничен в субмукозата
T2*	Инвазия в muscularis propria(MP)
T3	Инвазия през muscularis propria със субсероза(SS)
T4	Инвазия на висцералния перитонеум или инвазия или срастване към друг орган или структура** .
T4a	Инвазия през висцералния перитонеум (включващо микроперфорации и инвазия на съседни структури с перитуморното възпаление)
T4b*	Директна инвазия или срастване за орган или съседни структури.
*	

Таблица 2. Първичен тумор (T) категория според UICC.

N	
Nx***	Регионални лимфни възли не могат да бъдат определени
N0	Няма данни за засегнати ЛВ
Nx***	ЛВ не могат да бъдат определени
N1	Метастази в 1-2 регионални ЛВ
N2	Метастази в 3-6 регионални ЛВ
N3	Метастази в 7 и повече регионални ЛВ
N3a	Метастаза в 7 - 15 регионални ЛВ
N3b	Метастази в 16 или повече регионални ЛВ

Таблица 3. Регионални лимфни възли (N) категория според UICC.

M	
M0	Няма данни за далечни метастази
M1	Метастази в 1 или повече локализации или далечни органи или перитонеум

Таблица 4. Далечни метастази(M) категория според UICC.

\*Туморът може да пенетрира muscularis propria и да се разпространи в гастроколичния или гастрохепаталния лигамент, в голямото или малкото було, без перфорация на покриващия висцерален перитонеум. В тези случаи туморът да се класифицира като T2. Ако е налице перфорация на висцералния перитонеум, покриващ стомашните дубликатури или оментума, тумора се класифицира като T3<sup>139</sup>.

\*\* За съседни на стомаха структури се приемат слезката, колон транзверзум, черният дроб, диафрагмата, панкреаса, предната коремна стена, надбъбречните жлези, бъбреците, тънките черва и ретроперитонеума. Интрамуралното разпространението на тумора към дуоденума и/или хранопровода трябва се отчита като дълбоко проникване и да се определя както дълбочината, така и площта на засегнатата зона<sup>139</sup>.

\*\*\*Ако лимфните възли са по-малко от 15 на брой се приема, че лимфния статус не може да се определи и стадирането трябва да е Nx<sup>139-141</sup>.

Наличието на далечни метастази се обозначава със следните съкращения: белодробни-PUL; костни-OSS; чернодробни-HEP; мазъчни-BRA; парадоксални лимфни метастази-LYM; костномозъчни-MAR; плеврални-PLE; перитонеални-PER; адренални-ADR; кожни-SKI; други-OTH. Като далечни метастази при стомашния рак се приемат и засягането на

извънрегионални лимфни възли–парааортални, параезофагеални, наддиафрагмални, мезентериални, ретропанкреасни. Препоръчително е при оценката на нодалния статус да се определя съотношението между метастатичните лимфни възли и общия брой изследвани лимфни възли, поради очакванията, че този индекс има сериозна прогностична стойност при стомашния рак. Счита се, че ако съотношението е по-голямо от 0.2, тоест ако метастатичните лимфни възли са повече от 20 % спрямо всички останали дисецирани лимфни възли, то лимфадинектомията влияе само на локалните рецидиви<sup>139,143,144</sup>. При идентифициране на микрометастази (с диаметър<2мм) се добавя с вписването на суфикс “mi”, например pN1 (mi). Откриване на туморни клетки чрез имунохистологично изследване се отбелязва със суфикс “i”<sup>145</sup>. Пълното стадиране по TNM включва и останалите стандартни елементи от класификацията на рака на стомаха, а именно: G - хистопатологично градиране; R - наличието или липсата на остатъчен тумор след осъществяване на оперативната интервенция; L - наличието на лимфна инвазия; V – оценка на венозната инвазия; C – методи ползвани при стадирането на тумора; когато класифицирането на случая става по време или след провеждането на някакво лечение (напр. неoadювантна лъче и химиотерапия) се използва префикс “y”; наличието на множествени първични тумори се отбелязва със суфикса “m” - pT(m)NM

### 2.5.2 Позитронемисионната томография (PET-CT)

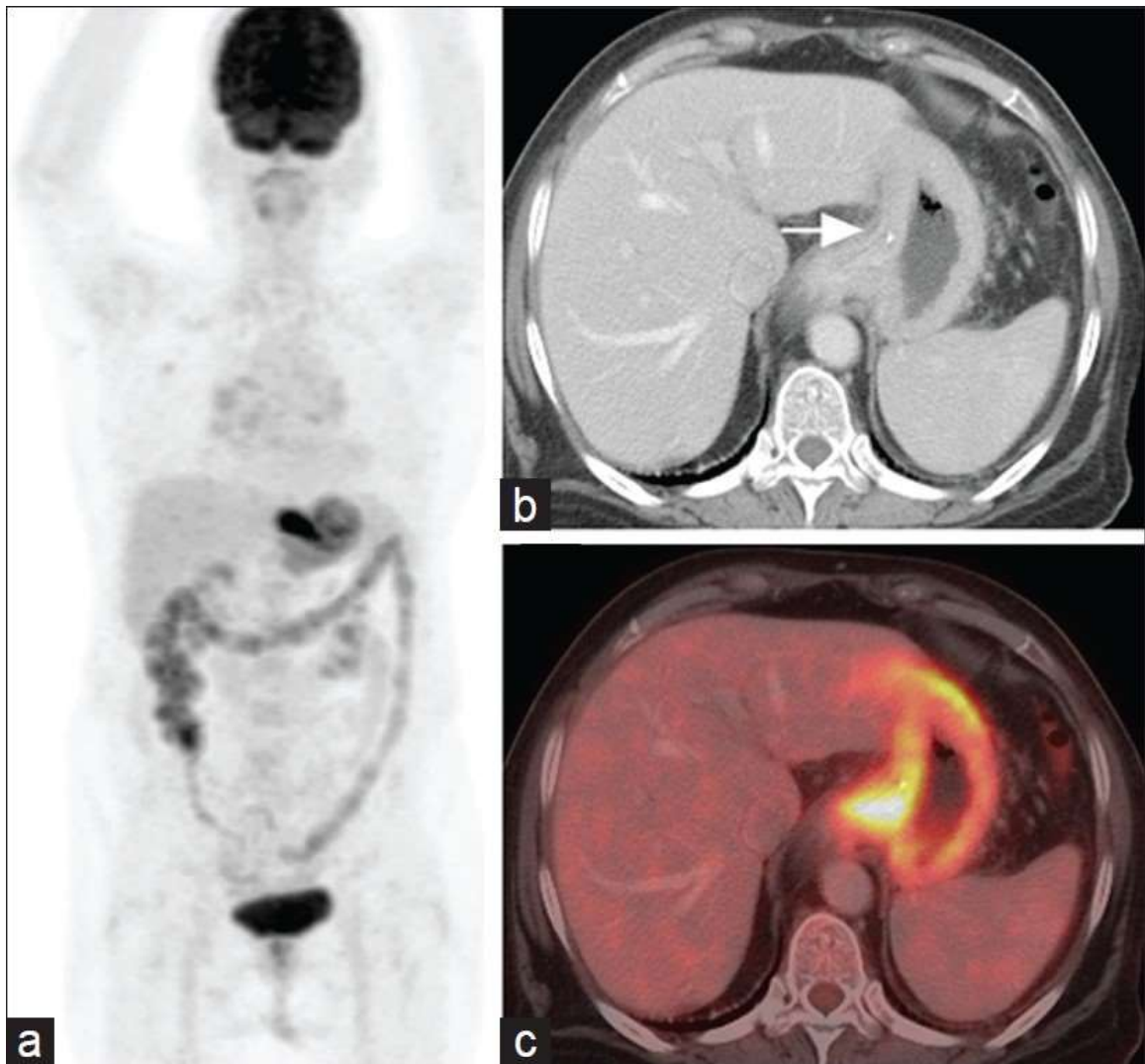
Клиничната оценка на стомашния карцином значително се подобри с наличието на EUS, CT, MRI, PET / CT и лапароскопско стадиране. PET-CT с използване на 18F-флуорордеоксиглюкоза (FDG) се оказва полезен за

предоперативно стадиране, откриване на рецидив, оценка на отговора на НАХТ и прогнозиране<sup>146-149</sup>.

За пациенти с локално напреднал рак на стомаха предоперативното стадиране е важно, тъй като може да предотврати ненужни лапаротомии и да насочи лекарите към лечение с други модалности, като неoadювантна химиотерапия. Конвенционалните СТ сканирания са един от най-важните образни методи за предоперативно стадиране на заболяването. Следователно, пациентите, диагностицирани с метастатични лезии (сM1) чрез СТ сканиране, могат да бъдат лекувани системно без операция. Въпреки това, стратегията за лечение на пациенти с локално авансирал рак на стомаха и без определени сM1 лезии често се определя въз основа на хирургични находки след лапаротомия или лапароскопско стадиране<sup>149</sup>. Резултатите при пациенти с локално напреднал рак на стомаха показват, че предоперативният 18F-FDG PET/CT може да предостави обективна информация за решения по отношение на стратегията за хирургично лечение като например лапароскопско стадиране с последваща неoadювантна химиотерапия.

Общата чувствителност на FDG-PET/CT за откриване на стомашен карцином е по-ниска, отколкото при повечето други злокачествени заболявания и ефективността му при тези пациенти все още е противоречива<sup>149,150</sup>. FDG-PET може да има различна чувствителност за различни хистологични типове, с по-добра чувствителност към тумори на гастро – езофагеалната връзка, но значително по-ниска чувствителност за дифузен тип аденокарцином – „linitis plastica” и включително пръстеновидно клетъчен карцином<sup>149,150</sup> (Фиг.3). Тъй като размерът на

тумора и дълбочината на инвазия са значими фактори, влияещи върху FDG-PET при откриването на тумора, чувствителността е ниска за ранен стомашен рак и далеч по-висока за напреднал стомашен карцином. Като цяло ролята на PET/CT е ограничена в T стадия поради ниската си пространствена разделителна способност<sup>150</sup>.



Фигура 3. а) КАТ изображение с дифузно повишен интензитет на стомашната стена и повишено натрупване на FDG. б) показват дифузно задебелена стомашна стена с данни за калцификати (стрелка) в областта на малката кривина. в) се визуализира интензивно поглъщане на FDG в удебелената стомашна стена (SUVmax 8.3).

За N стадиране при стомашния рак, чувствителността и специфичността на FDG-PET сравнено с CT-scan варират съответно между 33,3% - 64,6% и 85,7% - 97,0%<sup>149</sup>. Ниската чувствителност при откриване на метастази в лимфните възли може да бъде свързана с хистотипа на първичния тумор или дори с размера на метастатичните лимфни възли; някои малки лимфни възли могат да бъдат трудни за визуализация поради ефекта на радиоактивен обем, генериран от близкия първичен рак<sup>149,150</sup>. Независимо от това, се счита, че FDG-PET/ CT има по-висока специфичност от CT и MRI в N стадирането на стомашния рак, особено за стадите N2 и N3<sup>150</sup>.

FDG-PET/CT има по-ниска чувствителност от CT за диагностика на перитонеално засягане, като същевременно е по-ефективен при откриването на метастази в други органи, например - бял дроб, черен дроб, кости или надбъбречна жлеза, с близо 100% чувствителност и специфичност<sup>149,150</sup>. Въпреки тези ограничения, FDG-PET/CT се очертава като ефективно средство за терапевтична и прогностична оценка на авансирал стомашен рак. Пациентите с по-ниско предоперативно усвояване на FDG в туморната тъкан са показали значително по-ниска честота на рецидиви и по-добра преживяемост без рецидиви след операция<sup>149,150</sup>. По-ниското предоперативно усвояване на FDG се съобщава като предиктор за ефективността на оперативното лечение в дългосрочен план, тъй като по-голямото поглъщане на FDG в първичния тумор и поглъщането на FDG в регионалните лимфни възли са свързани значително с неефективността от стомашната резекция, което предполага, че тези пациенти са показани за неoadювантна химиотерапия<sup>150</sup>.

Неoadювантната химиотерапия се използва все по-често за напреднал стомашен рак за намаляване на туморния стадий, планиране на оптималното хирургично лечение и подобряване на общата прогноза<sup>150</sup>. Около 30% до 60% от хистологичните типове с частичен или дори пълен отговор са докладвани с различни терапевтични режими<sup>149</sup>. Тъй като се смята, че пациентите с клиничен и патологичен отговор на неoadювантни терапии са със значителна по добра прогноза за оцеляване, бързото идентифициране на отговорилите изглежда е от съществено значение. Поглъщането на FDG при PET/CT сканиране всъщност се счита за ранен и чувствителен показател за отговор на лечението<sup>149-152</sup>, съобразен с хистопатологичния анализ за туморен отговор. Промените в поглъщането на FDG скоро след започване на изследването също са свързани с крайния резултат от комплексното лечение. В някои проучвания метаболитно реагиращи тумори са показали по-добра прогноза от карциноми с по-слаба надфонова метаболитна активност, докато FDG неактивните тумори изглежда имат ниска степен на отговор на неoadювантна химиотерапия и неблагоприятна прогноза, което показва, че неoadювантните терапии могат да бъдат неефективни при метаболитни неотговарящи и при пациенти с ниско поглъщане на FDG при изходно стадиране с PET-CT<sup>149</sup>.

В неотдавнашна ретроспективна поредица от 309 пациенти със стомашен рак, подложени на хирургична резекция, Lee et al<sup>153</sup> демонстрират, че предоперативното поглъщане на FDG е свързано със системно възпалителна реакция при стомашния карцином, по този начин пациентите с рак на стомаха в напреднал стадий и агресивни характеристики са с повишен риск от системни възпалителни заболявания.

В допълнение, при пациенти с напреднал стомашен рак или рецидив се наблюдава повишено поглъщане на FDG от туморната тъкан и е доказано, че имат по-висока метаболитна активност от тези с ранен стомашен рак, или при липса на рецидив където имаме намалено или нулево поглъщане на FDG.

Съотношението между нормалната метаболитна активност на черния дроб и костния мозък е идентифициран като независим прогностичен фактор определящ преживяемостта при наличие на T4 стадий с метастази в лимфните възли и положителни резекционни линии. Авторите заключават, че туморните фактори за карцинома на стомаха, така и за системно възпалителните заболявания могат да играят важна роля в дългосрочната прогноза при пациентите с резектабилни тумори и че натрупването на FDG може да отразява степента на възпалителните реакции при карцинома и да предоставя информация за прогнозата след лечебна операция<sup>154</sup>.

### 2.5.3 Магнитно – резонансна томография (MRI)

През последните години ядрено-магнитния резонанс се прилага все по-често в клиничната диагностика и лечение на рака на стомаха, характеризира се с ярък контраст на меките тъкани и възможност за изобразяване на многоъгълни, многопосочни и многопараметрични данни. С разработването на бърза последователност, ЯМР предоставя изображения с висока разделителна способност и ключова информация за локализация на лезиите, и качествена диагностика без опасност от радиация. За да се намалят артефактите на движението поради стомашната перисталтика, въздуха и дишането на пациента, се прилагат редица методи, включващи изпълване на стомаха с контраст (800–1000

ml), приложение на скополамин и прилагане на ЯМР техники за задържане на дъха. От особена важност е адекватното разтягане на стомашната стена, което е от решаващо значение за разграничаването на слоевете на стомаха, като по този начин се идентифицира точната дълбочина на туморната инвазия (Т)<sup>155</sup>.

Редица проучвания доказват точността на ЯМР, варираща от 71,4% до 88% за Т стадиране и 52% до 55% за лимфни метастази (N)<sup>156-159</sup>. Неотдавнашен мета-анализ, включващ 439 пациенти с рак на стомаха, съобщи, че обединената чувствителност и специфичност на ЯМР за диагностициране на Т стадий (Т3-4 срещу Т1-2) са 93% и 91% и N стадий (N0 срещу N +), съответно 86% и 67%<sup>160</sup>.

Lee et al.<sup>159</sup> анализират пациенти с рак на стомаха, при които са извършени MRI и CT-scan и демонстрира, че в сравнение с CT- scan, MRI извършва сравнима диагностична способност в Т и N стадиране и дори показва по-висока точност в предоперативното М стадиране (92,9 % срещу 73,8% - 81,0%). Наскоро проучване съобщи, че MRI е с по голяма точност при стадий на TNM за предоперативното стадиране при рак на стомаха в сравнение с PET / CT, особено за N стадиране (Т: 76,9% срещу 57,7%; N: 53,9% срещу 34,0%)<sup>160</sup>. Тази обещаваща модалност използва превъзходния контраст на меките тъкани и функционалното изобразяване на ЯМР, което би предоставило анатомична информация с висока разделителна способност за стадиране и оценка.

Тумори, произхождащи от кардията, корпуса, антрума и пилора се визуализират добре. Дифузно инфилтративният карцином (linitis plastica) има тенденция да бъде с по-нисък интензитет на сигнала от нормалната

съседна стомашна тъкан, поради неговия десмопластичен характер. Карцинома тип Linitis plastica се визуализира само след умерено инжектиране на интравенозен контраст. За разлика от другите морфологични видове стомашен карцином, които се изобразяват по-интензивно с интравенозен гадолиний.

Oi et al.<sup>161</sup> използват динамичен гадолиний-подобрен SGE образна диагностика при 37 пациенти с рак на стомаха. Те докладват обща точност на T-стадия от 81%. Подчертават, че полезността на динамичното усилване на гадолиний, особено за точната диагноза на инвазия в съседни органи. Други групи, изучаващи точността на T-стадия на ЯМР, съобщават за точност в диапазона от 73,3% до 88%<sup>162,163</sup>. Последните проучвания също се фокусират върху очертаването на лигавица, субмукоза и мускулен слой на стомашната стена с помощта на динамичен MRI с гадолиний с или без техника на изваждане<sup>164,165</sup>.

N-стадирането с помощта на ЯМР показва същите проблеми като КАТ тъй като няма точни критерии за определяне на лимфаденопатията<sup>166,167</sup>. Основната стратегия за диагностицирането на засегнатите лимфни възли е измерване на размера. Повечето предишни доклади са използвали критерия, че лимфните възли по-големи от 8 mm в диаметър на късата ос са считани за злокачествени. Kim et al.<sup>168</sup> отчитат N – стадия с точност чрез ЯМР като 65%, малко по-ниска от тази на СТ - 73%. Sohn et al.<sup>169</sup> съобщава за ЯМР N-стадиране с точност 55% в сравнение с СТ - 58,6%.

Използването на критерия размер за определяне на злокачествеността на лимфните възли е фундаментално неточно, тъй като

туморите на стомашния чревен тракт, често включват лимфни възли с нормални размери и възпалително заболяване, което може да доведе до уголемяване на лимфните възли. Подобриенето в стадирането на ЛВ, се очакват чрез използване на селективни контрастни вещества, като такива с железен оксид<sup>170</sup>.

Откриване на чернодробни метастази при пациенти с карцином на стомаха драстично променя терапията. ЯМР, превъзхожда значително КАТ в диагностично отношение. Това до голяма степен се отразява на по-голямата разделителна способност на контраста на меките тъкани и по-голяма чувствителност към контрастно усилване на ЯМР в сравнение с КАТ. Също така, новоразработени хепатобилиарни контрасти с активни вещества като Gd-BOPTA и Gd-EOB-DTPA имат потенциал за подобряване на откриването на метастази в черния дроб<sup>171</sup>. Съществува също така възможност да се постигне подобро изобразяване на метастази на други места, например чрез използване на специална техника за задържане на дъха 3D градиент ехо за откриване на белодробни метастази<sup>171</sup>. Перитонеалното разпространение е добре визуализирано върху интерстициална фаза, подсилена с мазнини, потиснато изображение на SGE. По същия начин костните метастази се визуализират добре при SGE, потиснат от мазнини и интерстициална фаза изображенията.

В заключение се подчертава високоинформативната диагностична стойност на ЯМР при предоперативното стадиране, оценка на терапевтичния отговор, прогнозиране и хистопатологичните характеристики на рака на стомаха, и съответно определяне на най-подходящия план за лечение. С подобренията на техниката на сканиране,

ще се провеждат все повече експериментални проучвания и клинични изпитвания, допълнително утвърждаващи напредъка и надеждността на ЯМР при рак на стомаха.

#### 2.5.4 Ендоскопска ултрасонография (EUS)

Ендоскопската ултрасонография (EUS) е най- често срещаната техника за предоперативно определяне на Т - стадия на пациенти с рак на стомаха(Фиг.4). EUS се оказва много полезен за откриване на дълбочината на инвазия на рак на стомаха, с точност на Т - стадия приблизително 80% – 90%<sup>172</sup>. Въпреки неоспоримата стойност на EUS при оценката на засягане на стомашната стена и наличието на инфилтрирани парагастрални лимфни възли при стомашен карцином, ефективността му при първичната оценка и като скринингов метод е ограничена<sup>173</sup>.

За оценката на метастази в лимфни възли (LN) (N стадиране) обикновено изследването се основава на техните морфологични характеристики, ехогенност и размер. Независимо от това, EUS показва лоша надеждност и се съобщава за по-ниска точност на N – стадия<sup>174-176</sup>. Други причини за неточност на оценката на лимфния статус са свързани с дълбочината в която се намират и незадоволителната визуализация на отдалечен лимфен възел от EUS. EUS не може да оцени тъкани на дълбочина над 5 - 6 cm.

Dittler и Siewert<sup>177</sup> съобщават, че ако EUS не визуализира злокачествени лимфни възли в стадий Т1 или Т2, може да се приеме стадий - N0; ако лимфните възли се визуализират в стадий Т3 и Т4, тогава те са суспектни за злокачествени. Резултатите от някои проучвания<sup>178</sup>

демонстрират, че EUS-тънкоиглената аспирационна биопсия би била много полезна за отдиферинциране на доброкачествените от злокачествените лимфни възли.

Наличието на асцит при пациенти с рак на стомаха е лош прогностичен признак и предполага наличието на перитонеални метастази. Аспирационната биопсия, ръководена от EUS, също се използва успешно за откриване на злокачествен асцит<sup>179-181</sup>. Откриването на EUS на отдалечени метастатични лимфни възли и отдалечени метастази или M стадиране е невъзможно поради ограничената дълбочина на проникване на този метод. Следователно, комбинираното използване на EUS и CT-scan, с цел по добра оценка на далечната дисеминация, дава възможност за правилно стадиране и прилагане на адекватно лечение.

Точното стадиране ще дава възможност за правилна предоперативна стратегия в зависимост от стадия на заболяването (радикално или палиативно лечение) и предотвратявайки ненужни лапаротомии при пациенти с нерезектабилен тумор. EUS се счита за най-точната модалност за T – стадия при предоперативна оценка на рак на стомаха в сравнение с CT-scan<sup>182</sup>.



Фигура 4. Екоендоскопия за язвена лезия на антрума. Тумора излиза извън серозата с наличието на хипоехогенни лимфни възли. Хистопатологичното изследване стадира злокачественото заболяване на стомаха като T4N1.

### 2.5.5 Туморни маркери

Към края на двадесети век, злокачествените заболявания взеха превес над останалата патология сред населението и почти всеки четвърти човек, завършва живота си като раково болен. Науката е в непрекъснато разработва системи и диагностични способности за откриване на злокачествените заболявания в ранен стадий с цел максимално и ефективно лечение. Новост в диагностиката на злокачествените заболявания през последните 40 години са туморните маркери. Това са гликопротеини, които се образуват и експресират от туморните клетки, в сигнификатно голямо количество спрямо нормалните клетки.

Дефиниция за туморен маркер е показател, чиято концентрация може да се повиши при наличие на злокачествен процес в организма. Например, класически туморни маркери са скорост на утаяване на еритроцитите и лактатдехисрогеназата. Това са маркери повишаващи се при възпалителни и некротични процеси, т.е. те са много неспецифични за онкологично заболяване. По конкретно туморните маркери са макромолекули, чиято поява и увеличаване на концентрацията в организма е свързано с възникването и разпространението на карцинома. Маркерите могат да бъдат свързани с клетъчната мембрана и да бъдат изследвани с хистохимични методи или да синтезират и екскретират от малигнената тъкан, да се освобождават от разпад на тъкани или да се образуват от други клетки под влияние на онкологичния процес, като се отделят в телесните течности. Тази група туморни маркери се изследват в кръвен серум или урина са разгледани в по – нататъчното обсъждане.

За да бъде туморния маркер „уникален“, той трябва да притежава следните качества:

1. Специфичност – да се установява само при злокачествени процеси, не и при доброкачествени.
2. Чувствителност – да се открива при малък брой туморни клетки в организма.
3. Органна специфичност – да се появява само при туморен процес в определен орган.
4. Стойностите да се влияят от големината на туморната маса в организма (стадиране, прогноза)

Досега, не е открит туморен маркер, който напълно да покрива тези критерии. При хроничен възпалителен процес, се образуват променени клетки, които продуцират туморни маркери, здравият организъм ги, улавя и елиминира, това води до временно повишаване на стойностите на туморния маркер в серума. При редица туморни маркери, наблюдаваме – неспецифичност, т.е. повишаване при наличие на доброкачествени процеси. Рязко повишените стойности удостоверяват наличието на големи туморни маси в организма. Прогресията на маркерите при контролните изследвания говори за разрастване на онкологичния процес и лоша прогноза.

В практиката се препоръчва изследване на 2 различни туморни маркера в зависимост от органната локализация и при по нататъчното изследване подбор на един от двата за проследяване. Това се дължи на ниската органна специфичност, като практически няма туморен маркер, който да бъде напълно органно специфичен.

Има случаи при пациенти с напреднал стадий на злокачествено заболяване да не се установят повишени стойности на туморен маркер. Това означава, че изследването на туморните маркери не може да служи самостоятелно за поставяне на диагноза или за скрининг за ранно откриване на злокачествени заболявания, но заедно със всички останали изследвания имат важно прогностично значение. Най същественото приложение на туморните маркери е да се оцени ефекта на хирургичната процедура, химио и лъчелечението.

Правило в онкохирургията е да се изследват туморните маркери, преди извършване на хирургично лечение. Първо – това определя подходящия маркер, който да бъде проследяван по – нататък при системно лечение и второ – създава възможност при следоперативно изследване на маркера след 15-20 дни (полуживотът на болшинството туморни маркери в кръвта е 5-10 дни), да се оцени радикалността на операцията. При нормализиране на стойностите, може да се приеме с голяма вероятност, че секретиращата повърхност на макрера – туморната маса е премахната. През първата и втората година след операцията най-често се препоръчва 3-4 кратно изследване на маркера.

Проследяването му преди и след курс химио- или лъчелечение дава възможност за преценка на повлияването на наличната маса на туморната тъкан от лечебния процес.

При онкоболните туморните маркери имат своето доказано място и това е в "мониторирането" на терапията при системно лечение. Чрез тях определяме ефективността от приложената терапевтична схема и добиваме информация за необходимостта от други(нови) по-подходщи, подходи, рано и безопасно за разлика от другите способности. Често

повишените стойности на маркерите уловени 4-5 месеца свидетелстват за чернодробни лезии, когато са невидими при ехография.

#### *2.5.5.1 Въглехидратен (карциномен) антиген 19-9 (CA 19-9)*

CA 19-9 е туморен маркер, който е изолиран от клетки на колоректален карцином, той представлява високомолекулярен муцин. Изолира се от фетални епители на дебелото черво.

Туморния маркер се използва при колоректален рак и карцином на панкреаса, за оценка на лечението. Също така, повишените стойности могат да се наблюдават при пациенти с карцином на стомаха и жлъчните пътища.

Леко до умерено повишени стойности на CA 19-9 се установяват при болни с хепатит, холангити, панкреатити и ревматоиден артрит<sup>183,184,185</sup>.

#### *2.5.5.2 Карциноембрионален антиген (CEA)*

Първият навлязъл в клиничната практика туморен маркер е описан от Gold и Freedman през 1965г<sup>186</sup>. Намира се в относително висока концентрация в тъканите на храносмилателен тракт на човешкия фетус.

Поради неспецифичността си CEA все по-малко се използва в клиничната практика като средство за проследяване на ефекта от лечението на онкоболните. Повишени стойности на маркера наблюдаваме при редица заболявания като колоректален карцином, карцином на стомаха, на панкреаса, млечната жлеза, черния дроб, бронхиален карцином, карцином на щитовидната жлеза, лимфоми и пр. Поради това CEA се използва като туморен маркер за избор на второ място, когато не се

установи повишена секреция на считания за „ специфичен“ туморен маркер. Повишени стойности наблюдаваме при редица хронични и немалигнени заболявания на храносмилателната система - хепатити, чернодробна цироза, панкреатити, при хронични бронхити. Важно е да се помни, че леко повишени стойности (до около двукратно спрямо горната референтна граница) се наблюдават при пушачи<sup>187</sup>.

#### 2.5.5.3 Ca72-4

CA 72-4 – туморен маркер, който се установява повишен при различни аденокарциноми. Той има специфичност над 95% и е маркер на избор за терапевтичен мониторинг и последващи грижи за пациенти с рак на стомашно-чревния тракт. Подходящи туморни маркери за допълнително изследване са CA 19-9 и CEA.

Стойностите на CA 72-4 се повишават при наличие на рак на стомаха<sup>188</sup>. Предполага се, че много високите нива на този туморен маркер са често свързани и с чернодробни метастази. Поради високата си специфичност, нивото на CA 72-4 е ценен параметър при определяне на прогнозата при рак на стомаха и проследяването на заболяването. Друго важно предимство на CA 72-4 е проявената зависимост между нивата му и степента и размера на тумора, като се наблюдават значително по - високи нива при напреднал стомашен рак за разлика при ранния<sup>189</sup>.

Леко повишаване на CA 72-4 понякога може да се наблюдава и при доброкачествени заболявания на млечната жлеза или черния дроб, както и при бременност<sup>190</sup>.

Съществува общ консенсус относно ниската чувствителност и специфичност на туморните маркери СА 19-9 и карциноембрионален антиген (СЕА) при диагностицирането на стомашен карцином. Прогностичното значение на предоперативния серумните нива на тези туморни маркери все още се изследват. В някои експериментални проучвания се предполага, че СА 19-9<sup>191</sup> и СЕА<sup>192</sup> функционират като междуклетъчна адхезия на молекули и по този начин може да доведе до метастази. Отново се посочва, че СЕА предизвиква освобождаване на супресор лимфокин от здрав човек лимфоцити *in vitro*, които могат да причинят имunosупресия при пациенти с карцином<sup>193</sup>.

Високите серумни нива на СА 19-9 и СЕА може да са показатели за по-лоша прогноза. Въпреки това, резултатите от клиничните проучвания относно прогностична стойност на предоперативните серумни нива на СА 19-9<sup>194-197</sup> и СЕА<sup>194,195,196,198,199</sup> при пациенти със стомашен карцином са противоречиви. В проучване с изследване на предоперативни серумни нива СА 19-9 и СЕА бяха включени 168 пациента, подложени на стомашна резекция с диагноза стомашен карцином между 1993г и 1998 г. в SSK Okmeydani Training Hospital. При 93 пациента е извършена субтотална резекция на стомаха, а при 75 – тотална гастректомия. Изследвана бе връзката на предоперативните серумни нива на СА 19-9 с клиникопатологичните фактори и прогностичното значение на СА 19-9 в резектабилни пациенти със стомашен карцином и в сравнение с СЕА. Тумори, простиращи се извън subserosa (T3) са били значително по-високи при СА 19-9 и СЕА положителни пациенти в рамките на изследването<sup>200</sup>. Guadagni et al.<sup>201</sup> не са доказали корелация между серозно засягане и СА

19-9 и СЕА позитивност. Kodera et al. докладват, че туморите, простиращи се извън muscularis propria (T2), са със значително по висок СА 19-9<sup>202</sup> и СЕА за разлика от други изследователи<sup>202,203</sup>.

В наскорошно изследване се установи корелация между метастазирането в лимфните възли и положителност на СА 19-9; обаче при пациенти които имат положителен СЕА, засягането на лимфните възли е значително завишено. Докато Kodera et al.<sup>202</sup> са доказали значимо по-висок процент на метастази в лимфните възли при СА 19-9 положителен пациенти, Guadagni et al.<sup>201</sup> не са наблюдавали такава корелация. Въпреки че няма връзка между статуса на лимфните възли и нивата на СЕА се наблюдава в някои проучвания значително по-високи нива на метастази в лимфните възли при СЕА положителни пациенти<sup>198,203- 205</sup>. Има доклади, че при повишена степен на метастази в лимфните възли, СЕА се позитивира; те също така предполагат, че при пациенти с метастази в лимфните възли, СЕА се освобождава чрез лимфните съдове заобикаляйки чернодробния клирънс и по този начин степента на положителност на СЕА може да бъде по-висока<sup>205</sup>.

Когато клиничния стадий, отговаря на туморния процес, при по – напреднали стадии и нерезектабилни карциноми (стадий III и IV) се наблюдава повишен туморен маркер СА 19-9. Този процент също има тенденция да бъде по-висок при пациентите с положителен СЕА. Wobbes et al.<sup>206</sup> не са установили връзка между стадия на първичния тумор и СА 19-9; от друга страна в някои доклади<sup>201,202,207</sup>, по-често се срещат тумори в напреднал стадий, които позитивират СА19-9. Въпреки че много

изследователи<sup>201,206</sup> не правят корелация между туморния стадий и нивата на СЕА, докато в много други доклади<sup>197,199,200,202,203,207,208</sup> напредналия нерезектабилен туморен процес се наблюдава по-често сред повишените стойности на СЕА. Тези резултати предполагат, че както СА 19-9, така и нивата на СЕА се увеличават пропорционално с напредналия туморен процес и може да е показател за предоперативния туморен стадий и респективно, критерий за резектабилност.

Няколко проучвания предполагат, че стойностите на туморния маркер СА 72-4 могат да се считат за важен компонент в клиничната диагноза на първичния и рецидивиращ стомашен карцином<sup>207,209-215</sup>. Повишените серумни нива на СА 72-4 могат да бъдат открити при по-висок процент пациенти с рак на стомаха отколкото повишени нива на СА 19-9 или СЕА. Освен това, положителните нива на серумен маркер са свързани с наличие на засягане на сероза и лимфни възли при пациенти с диагноза стомашен карцином, определящи стадия и съответно възможността за резектабилност, което е в съгласие с други изследвания<sup>213,216-218</sup>. В научно изследване бе заложено отдиферинцирането на серумните нива на СА72-4 и серозната инвазия, като в изследването са включени, само пациенти с отрицателен лимфен статус, връзка между серозната инвазия (Т4) и туморния маркер не се установява<sup>214,215</sup>. От друга страна беше намерена ясна корелация между наличието на метастази в лимфните възли и положителния серумен СА 72-4<sup>215,216</sup>. От казаното дотук става ясно, че наличието на положителни нива на СА 72-4 може да бъде показател за ранните и късните стадии на заболяването и съответно да бъде предиктор за резектабилността.

В заключение на това следва, че СА 72-4 може да се счита за маркер при проследяване на пациенти с рак на стомаха и може да се използва като прогностичен индикатор за рецидив. Тази информация може да бъде от съществено значение при пациенти с висок риск от рецидив на основното заболяване и за напреднал неоперабилен туморен процес.

## 2.6. Хирургично лечение

Хирургичното лечение е единственото лечебно средство при стомашния рак, но по - голямата част от резектабилните тумори са локално авансирани, характеризиращи се с туморна инфилтрация на серозата (T4) или наличие на метастази в локорегионалните лимфни възли. Само 40% от ранния рак на стомаха се проявява със симптоми и 80% от симптоматичните пациенти са в >T1 стадий. Общо 65% от пациентите са с напреднал рак (T3, T4), 85% имат метастази в лимфните възли(N+), а 40% са метастатични (M1)<sup>219</sup>. Оперативното лечение само по себе си, вече не е стандартно лечение за локално авансирани тумори, тъй като прогнозата се подобрява значително с предоперативна химиотерапия, която води до downstaging и downsizing и се подобрява резектабилността и нивото на радикалните оперативни интервенции. Въпреки мултимодалната терапия и адекватното хирургично лечение само 30% от пациентите доживяват до 3 години.

В хирургичното лечение на стомашния карцином, обема на стомашната резекция, определя избора на оперативна тактика. Дали субтоталната гастректомия е по – удачния подход спрямо тоталната гастректомия - протичаща с повишаване риска на периперитонеални и пост оперативните усложнения, значително нарушаваща качеството на живот и

инвалидизираща пациентите. В допълнение към това, разширените резекции не водят до подобрене на 5 – годишната преживяемост.

През 70-те години на миналия век Западните хирурзи са предложили концепция за тотална гастректомия като единствено подходящо радикално хирургично лечение на рак на стомаха – „тотална гастректомия“ „de principe“. Те твърдят, че риска от положителна проксимална резекционна линия е по-малък, и тъй като злокачественото заболяване на стомаха е системно заболяване, при субтоталната гастректомия лимфната дисекция е неадекватна (пропускане на 2 лимфен колектор – лявокардиачен)<sup>220</sup>.

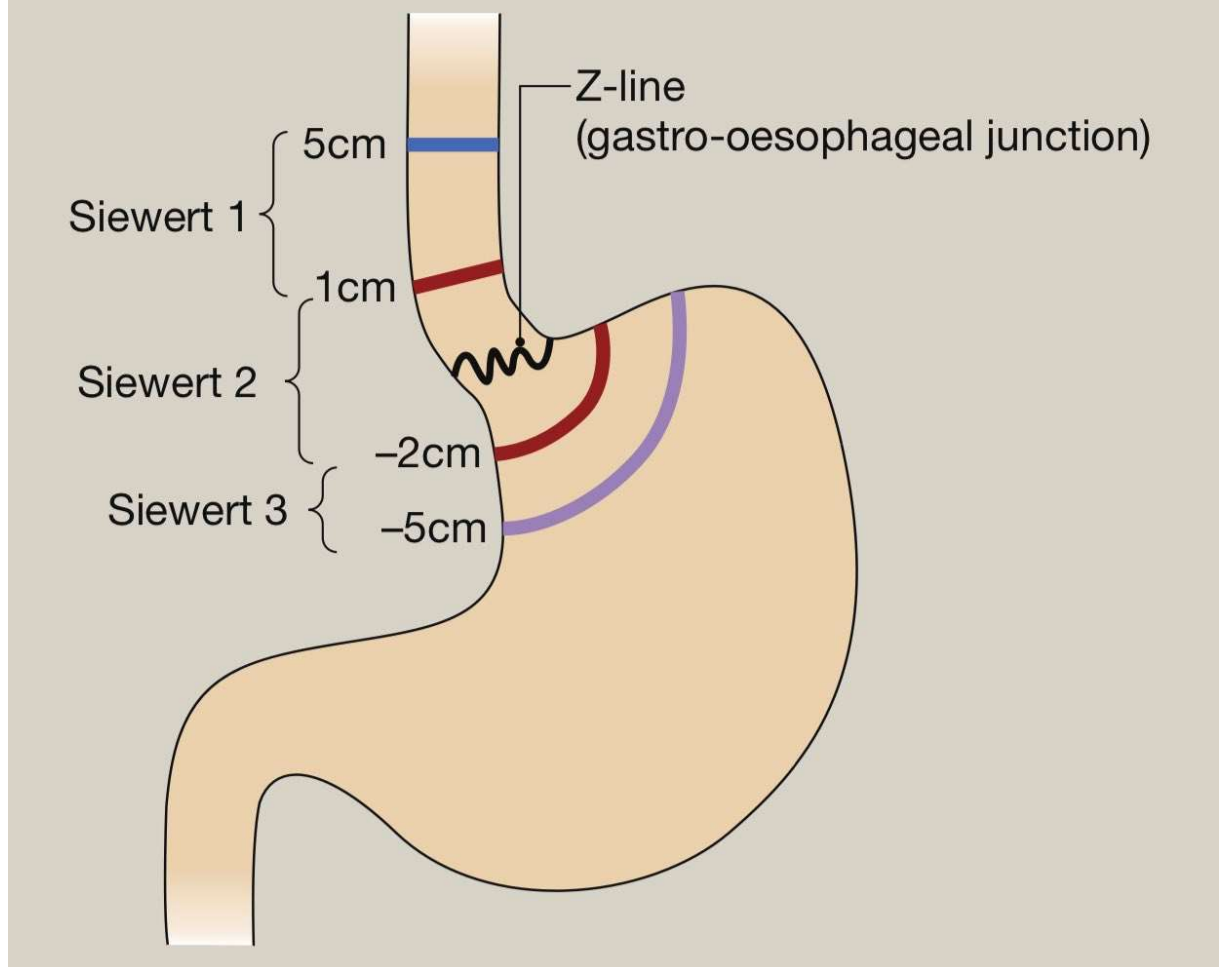
В Япония тотална гастректомия се извършва само когато е необходимо, за да се постигнат чисти резекционни линии R0. Субтотална гастректомия се извършва рутинно за антрални тумори със задоволителни резултати. Лимфната дисекция при антрални тумори с остраняването на лявокардиачното (2-ро ниво), ЛВ по гастриче бревес(4), в далачния хилус(10) и по хода на лиеналните съдове(11) (при тотална гастректомия) не довеждат до подобряване на далечните резултати. Проблема в положителните проксимални резекционни линии е, неправилното предоперативно стадиране<sup>221,222</sup>. При проведени серия от проучвания на следоперативна заболеваемост и смъртност и 5 – годишна преживяемост при пациенти след субтотална и тотална гастректомия се установяват по - добри резултати след субтотална резекция<sup>223</sup>.

### 2.6.1 Обем на стомашната резекция

Видът на хирургичната резекция при рак на стомаха зависи от мястото на първичния тумор, която се определя от правилото за 5см отстояние от макроскопския ръб на тумора. Тоталната гастректомия е за тумори – дифузен тип по Лаурен, които са с изразена дезмопластична реакция и характерно дифузно разпространение<sup>221,222,224</sup>. Тотална гастректомия при дистални тумори не е задължителна при адекватно стадиране и определен хистологичен тип (интестинален по Лаурен)<sup>221,225</sup>.

Злокачествените тумори на стомаха, разположени на средната трета (в корпуса на стомаха), често изискват тотална гастректомия в зависимост от проксималния ръб на тумора. В зависимост от гастро – езофареалната връзка (ГЕВ), стомашния остатък трябва да е на минимум 2см (Siewert - 3)(Фиг.5). При тумори без инвазия на серозата (Т3), е необходимо 7см отстояние от ГЕВ. При локално авансирани тумори (Т4) с инвазия в серозата е необходимо най – малко 8см отстояние от проксималния макроскопски ръб на тумора. По малко разстояние е приемливо при пациенти в напреднала възраст и интестинален тип по Лаурен<sup>224,225</sup>. Ракът на проксималната трета е тумор на стомашната кардия тип 2 по Siewert (Фиг.5) могат да бъдат отстранени с тотална гастректомия или гастро - езофагектомия, за постигане на чисти резекционни линии(RO)<sup>226</sup>.

## Siewert classification of gastro-oesophageal cancers



Фигура 5. Класификация на гастро-езофагеалните карциноми

След тотална гастректомия пациентите са с по - лошо качество на живот отколкото след субтотална резекция<sup>224,228</sup>. Някои автори предлагат близка до тоталната гастректомия операция включваща пълна резекция на фундуса с кардиална лимфаденектомия на (1 и 2 група) и стомашен остатък 2см, като се постига подобен онкологичен резултат. Избягват се честите следоперативни усложнения при тоталната гастректомия, като

инсуфициенция, рефлукс и дъмпинг синдром, дължащо се на запазването на ГЕВ<sup>229</sup>.

Субтоталната гастректомия с лимфна дисекция е златният стандарт за лечение на рак на стомаха в ранен стадий, локализиран в дисталната трета на стомаха. Резултатите от две рандомизирани проучвания, проведени в европейски страни, показват, че субтоталната гастректомия за рак в дисталната трета на стомаха води до еднакви дългосрочни резултати за преживяемост като тоталната гастректомия, с по-ниски нива на заболяемост и смъртност и по-добро постоперативно качество на живот<sup>230,231</sup>. При пациенти с тумор, разположен в дисталната трета, тоталната гастректомия без лимфна дисекция би била онкологична грешка, тъй като се премахва голяма част от здравия стомах и в същото време, не се извършва адекватно стадиране. Според рандомизирано проучване, извършено в Италия, резекционната линия трябва да осигури безопасно 3-6 см отстояние от макроскопския ръб на тумора в случай на интестинален или дифузен тип по Лаурен<sup>231</sup>. Въпреки това, според насоките на Японската асоциация за рак на стомаха, проксимален ръб трябва да е най-малко на 3 cm за T2 или по-дълбоки тумори с експанзивен тип на растеж (Borrmann 1 и 2) и 5 cm се препоръчва за тези с инфилтративен тип на растеж (Borrmann 3 и 4).

От проучване в Корейския колеж в Сеул<sup>232</sup> са сравнени 402-ма (39,3%) пациенти с напреднал рак в средната трета на стомаха и 172-ма (83,3%) с рак на долната трета. В проучването тотална гастректомия е направена при пациенти с по – голяма туморна инфилтрация, въпреки това няма разлика в преживяемостта при извършената стомашна резекция.

Анализът е доказал, че вида на резекцията и отстоянието на проксималната резекционна линия, използвайки гранична стойност от 1 до 5см на интервали от 1см, не оказват влияние върху 5 годишната преживяемост. Подобни резултати са докладвани от друго изследване в същия регион<sup>233</sup>. За сравнение в миналото се е препоръчвало отстояние >6,5см с цел предотвратяване на локален рецидив<sup>234</sup>.

В най – скорошни публикации за напреднал стомашен рак се приема отстояние >3см за онкологично издържано. Въпреки това според Японската класификация за стомашен рак (2-ро английско издание), адекватна резекционна линия е тази на разстояние >1см от тумора. Инфилтрацията на резекционната линия (R1) е неблагоприятен прогностичен фактор при всеки един стадий на заболяването при които е възможна радикална операция. При добро общо състояние, те подлежат на повторна оперативна интервенция<sup>235</sup>.

В заключение, дългогодишния опит доказва, че онкологичните резултати не се влияят от вида на стомашната резекция или от отстоянието на проксималната резекционна линия при пациенти с карцином в средната или дисталната трета на стомаха, и могат да бъдат лекувани със субтотална гастректомия с добри онкологични резултати. Такива пациенти ще имат по-малка следоперативна заболеваемост и смъртност, и по – добро качество на живот в сравнение с разширените резекции.

### 2.6.2 Комбинирани резекции

Комбинираните резекции (мултивисцерални) се извършват при лимфна дисекция, очевидна локална инвазия с цел постигане на радикалност (R0). Разширяването на стомашната резекция, включваща

далака и панкреаса при D2 лимфна дисекция сериозно се обсъжда при липса на макроскопско заболяване в областта. Otsuji et al. докладват, че комбинираните резекции с цел разширена лимфна дисекция, при липса на макроскопски данни за заболяване, не подобрява преживяемостта, но увеличава риска от усложнения<sup>236</sup>. В клинично проучване с 207 пациенти разпределени на случаен принцип за тотална гастректомия с или без спленектомия, Yu et al. докладват по висока заболеваемост и смъртност при незначителна онкологична полза<sup>237</sup>. Тези операции водят до 56% по дълъг болничен престой<sup>238</sup>.

Локалната инвазия на злокачествения процес в съседен орган се менажира с комбинирана резекция. Най – често резецираните органи са колон трансверзум, панкреас, слезка и левия лоб на черния дроб. Съседната органна резекция при T4 пациенти, подобрява 5 – годишната преживяемост до 37% при неметастатично заболяване и 15% при наличие на локорегионални и далечни метастази<sup>239</sup>. Martin et al. докладват, че комбинирана резекция може да се направи при 4% смъртност, само при подбрани, добре стадирани пациенти с T4 лезии, при които R0 резекция е осъществима<sup>240</sup>. За да се избегнат ненужни агресивни подходи към предполагаема инвазия в друг орган, най – важно е предоперативното стадирание с ехоендография и друг образнодиагностичен метод.

Martin et al.<sup>241</sup> съобщават, че при внимателен подбор на пациентите може да се направи гастректомия с допълнителна резекция на орган с приемлива заболеваемост и ниска смъртност. Необходими са подобрения в предоперативната оценка за потвърждаване на T3 и T4 туморна инвазия, за да се сведат до минимум ненужните резекции на органи в ранен стадий

на заболяването. Дълбочината на инвазия и наличието и степента на метастази в лимфните възли са най-важните фактори определящи преживяемостта след R0 резекция. Гастректомията с допълнителна резекция на орган трябва да бъде ограничена единствено при T4 тумори, като се разбира, че по-голямата част ще бъде T3<sup>242</sup>.

### 2.6.3 Палиативни операции

Метастатично заболяване в IV стадий се открива при 25% от новодиагностицираните пациенти. Палиативните процедури имат една единствена цел да облекчат симптомите на пациентите и да подобрят качеството на живот, при напреднал стомашен рак<sup>243</sup>. За разлика от радикалните оперативни процедури, където основните онкологични принципи са ясно определени и дефинирани, а рисковете от оперативната интервенция са оправдани, то при палиативните процедури няма ясно определени индикации и цели. Данните относно палиативните процедури са ограничени, но в литературата се намира все повече информация относно действията при нелечим рак на стомаха.

Главните точки при палиацията, трябва да залагат на облекчаване на симптомите и влиянието им върху цялостния организъм и нарушеното качество на живот, контрол на болката и рентабилност. Свързаната с лечението рискове за пациента, заболяемост и смъртност, също трябва да бъдат включени в основните точки. В преценката за хирургична палиативна грижа влизат общо състояние на пациента, качество и продължителност на живот. Ключът за вземане на решение в палиативната фаза на заболяването на пациента е непрекъснатото преоценяване на променящите се нужди на и индивидуален подход на

лечение. Палиативният триъгълник е динамичното взаимодействие между пациента, семейството му и хирурга, които са от решаващи значение за дефинирането на целите и изискванията за грижите на всеки пациент<sup>244</sup>.

Въпросът какви палиативни резултати могат да се очакват при пациент подложен на палиативна интервенция, беше изследван в проучване съдържащо 1022 хирургични процедури за напреднал стомашен карцином<sup>245</sup>. Облекчаване на симптомите се наблюдава при 80% от пациентите, но следоперативно е имало значителна заболяемост и смъртност, съответно 40% и 10%. Често е била необходима реоперация 25% и рецидивирание на симптоматиката 25%. Има доказателство за трайно подобрение на качеството на живот при пациенти с преживяемост от 194 дни със средна стойност 135 дни без симптоми. Интраоперативните усложнения удължават болничния престой и намаляват шансовете за ерадикация на симптомите.

Съществува значителна разлика между пациенти, подложени на палиативни и тези без палиативни стомашни резекции. Това беше доказано в ретроспективно проучване, разглеждащо 307 пациенти, подложени на нерадикални стомашни резекции<sup>246</sup>. 48% от пациентите са имали палиация, а при 52% не е осъществявана резекция. Средната преживяемост при пациентите след нелечебна резекция е 10,6 месеца, като пациентите без палиация имат значително по дълга преживяемост, за разлика от палиативните пациенти (13,5 vs 8.3 месеца). Оперативните процедури извършени на пациенти над 65 години с цел облекчаване на симптомите е свързано със значително по малка преживяемост. Ерадикация на симптомите е получена при 76% от пациентите, като

основната част от остатъчните симптоми са се дължали на далечните метастази и кацинозата. Важно е да се идентифицират пациентите подложени на палиативни хирургични грижи, така че акцентът да е върху подобряване качеството на живот и контрол на симптомите, но не за сметка на преживяемостта.

При усложнения на авансирания стомашен карцином като кървене, стеноза или перфорация има докладвана разлика в преживяемостта в зависимост от вида на лечебния избор. При ендоскопско стентирание, лазер коагулация, радиация и други ендоскопски методи общата преживяемост е 7 месеца, за разлика от 8-10 месеца при пациенти , подложени на стомашна резекция или ГЕА<sup>247</sup>.

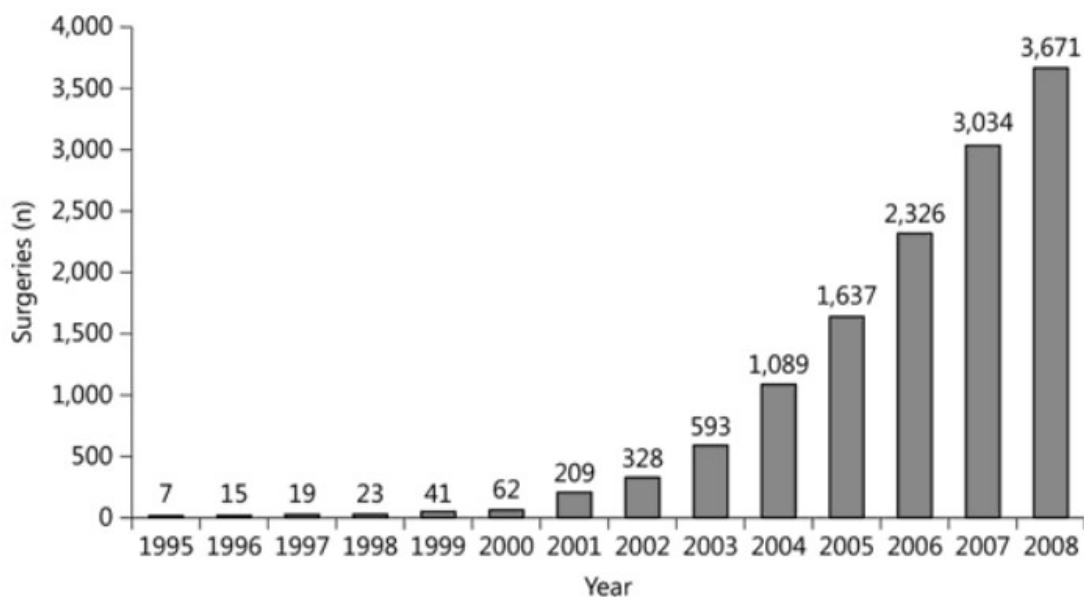
Gretschel et al.<sup>248</sup> докладват, че при пациентите с P1 (перитонеални метастази в съседство) перитонеална карциноматоза има редна преживяемост от 23 месеца след резекция и химиотерапия в сравнение с 1,3 месеца само на поддържаща терапия. 8,4 месеца само след резекция и 7,4 месеца само с химиотерапия. При пациенти с P3 перитонеална карциноматоза (многобройни метастази в отдалечения перитонеум), не са имали полза от резекцията. Проучвания като тези изследват предимно преживяемостта, но са ограничени от неуспеха на влошеното качество на живот и необлекчението на симптомите<sup>249</sup>.

## 2.7. Лапароскопска срещу отворена хирургия за рак на стомаха.

Лапароскопската хирургия за рак на стомаха придоби популярност след описания от Kitano случай за субтотална гастректомия по повод стомашен карцином през 1994г<sup>250</sup>. С усъвършенстване на лапароскопските инструменти и техники миниинвазивната хирургия демонстрира все по голямо клинично приложение за лечение на рак на стомаха в начален стадий<sup>251</sup>. В азиатските страни като Япония и Южна Корея (Фиг.6), лапароскопската дистална гастректомия се превърна в златен стандарт при лечение на ранен стомашен рак (EGC), локализиран в дисталната и средната трета<sup>252, 253</sup>(Табл. 5).

Author	Year	Operation	Indication	Country	Analysis
Ohgami et al.	1992	Laparoscopic wedge resection	EGC	Japan	<i>n</i> = 6
Ohashi et al.	1995	Laparoscopic intragastric mucosal resection	EGC	Japan	<i>n</i> = 8
Kitano et al.	1994	Laparoscopic-assisted Billroth I gastrectomy	EGC	Japan	Case report
Azagra et al.	1999	Laparoscopic-assisted total gastrectomy	EGC, AGC	Belgium	<i>n</i> = 13
Uyama et al.	1999	LADG with D2 LND	AGC	Japan	<i>n</i> = 12
Ohki et al.	1999	Hand-assisted laparoscopic distal gastrectomy	EGC	Japan	Case report
Kanaya et al.	2002	Totally laparoscopic Billroth I gastrectomy	EGC	Japan	<i>n</i> = 9
Giulianotti et al.	2003	Distal and total robotic gastrectomy	EGC, AGC	Italy	<i>n</i> = 18
Omori et al.	2011	Single-incision laparoscopic distal gastrectomy	EGC	Japan	<i>n</i> = 7

Таблица 5. Първи доклади в хронологична подредба в миниинвазивната стомашна хирургия



Фигура 6. Годишен брой на лапароскопските стомашни резекции в Южна Корея

Освен това развитието на тази техника доведе до широко приложение на други видове гастректомии. Резултати от ретроспективно многоцентрово проучване, проведено в Южна Корея от корейска група за лапароскопска гастроинтестинална хирургия (KLASS), показаха, че лапароскопската гастректомия (LG) осигурява задоволителни дългосрочни онкологични резултати, подобни на тези при отворената хирургия<sup>254</sup>. В гореспоменатото проучване индикация за LG са пациенти с рак на стомаха в Ia стадий (cT1N0M0), с изключение на тези, които са подходящи за ендоскопска резекция. Въпреки това, с натрупването на опит, показанията бяха разширени до предоперативна диагностика на по-напреднал ранен стадий на заболяването (cT1N1M0, cT2N0M0 и cT2N1M0). Честотата на рецидиви е 1,6% (19/1186) при EGC и 13,4% (31/231) при напреднал рак на стомаха (AGC)<sup>255</sup>.

Мета анализ на краткосрочните резултати при лапароскопска стомашна хирургия сравнена с конвенционалния метод, потвърждава, че

LG е добра алтернатива на отворената гастректомия при пациенти с рак на стомаха. Доклада посочва, че LG има няколко значителни предимства – намалена болка, кратък болничен престой, по – бързо възстановяване на пасажа, ранно хранене и краткосрочно раздвижване. Също така се съобщава за сравнително по – малко хирургични усложнения и смъртност за сметка на миниинвазивния подход сравнено с отворения метод<sup>256</sup>. (Табл.6).

Резултати	Включени проучвания	Пациенти		Хетерогенност ( $I^2, P$ )	Цялостен ефект WMD/RR (95 % CI)	P стойност
		LG	OG			
Болничен престой	18	1593	1652	86 %, <0.01	-3.63 (-4.66, -2.60)	<0.01
Възстановяване на пасаж	15	1373	1398	89 %, <0.01	-0.78 (-1.05, -0.50)	<0.01
Захранване	12	1237	1165	72 %, <0.01	-0.89 (-1.20, -0.59)	<0.01
Раздвижване	9	1162	1002	97 %, <0.01	-0.95 (-1.47, -0.44)	0.0003
Общи усложнения	21	1888	1938	6 %, 0.38	0.71 <sup>a</sup> (0.59, 0.87)	0.0007
Хирургични усложнения	13	1404	1318	0 %, 0.61	0.69 <sup>a</sup> (0.53, 0.88)	0.003
Медицински усложнения	11	1023	970	8 %, 0.37	0.51 <sup>a</sup> (0.32, 0.81)	0.004
Смъртност	11	1230	1225	0 %, 0.89	0.67 <sup>a</sup> (0.25, 1.77)	0.42

Таблица 6. Мета-анализ на краткосрочните резултати при LG и OG

Адекватната лимфаденектомия е най-важният прогностичен фактор при рак на стомаха, надеждността на лапароскопския подход зависи от правилното извършване на D2 дисекция, така е и при отворена хирургия,

следвайки критериите на насоките на Японската асоциация за рак на стомаха. Смята се, че лапароскопският подход се използва при около 20% от операциите на рак на стомаха в Япония; въпреки това, според японските гайдлайни за стомашен карцином (2010, версия 3), минимално инвазивния подход трябва да се изследва при лечение. Понастоящем, въпреки че дългосрочните резултати от проучването KLASS фаза III все още не са публикувани, LG се счита за приета като хирургичен подход за EGC<sup>257</sup>. При интрамукозен рак, който не е подходящ за ендоскопска резекция или след нелечебна ендоскопска резекция, се препоръчва хирургично лечение и лапароскопският подход изглежда е добра алтернатива на конвенционалната отворена хирургия, тъй като D1 +  $\beta$  LN дисекция може безопасно да се извърши с лечебна цел. Прилагането на LG за AGC остава противоречиво поради техническата трудност при извършване на пълна D2 лимфаденектомия. Доказано е, че разширената LN дисекция е технически осъществима с голям брой изолирани възли както при лапароскопски, така и при роботизирани подходи<sup>258,259</sup>. Въпреки това, предоперативната диагноза на AGC с очевидни метастатични лимфни възли не е индикация за минимално инвазивен подход. В няколко серии предоперативното подценяване на EGC прикрива наличието на AGC в 4,6%-7,6% от случаите. Ретроспективният анализ на групата KLASS по отношение на 239 пациенти, които са били диагностицирани с AGC при окончателен патологичен преглед, показва, че степента на дългосрочна преживяемост е сравнима с тази, докладвана по-рано за отворена гастректомия<sup>254</sup>. В това проучване е извършена D2 LN дисекция в 68,2% от процедурите; обаче само 23% от пациентите са били диагностицирани със стадий III или IV. Скорошен мета-анализ на LADG

показа, че краткосрочният резултат от LADG за EGC е по-добър от този на отворената операция<sup>260</sup>. Въпреки това, LADG се извършва по рядко в сравнение с отворената дистална гастректомия по отношение, може би по отношение на оперативното време и също така показва по-малък брой събрани LN. Дългосрочният резултат трябва да бъде доказан от допълнителни резултати от текущи рандомизирани клинични проучвания.

Лапароскопската хирургия при злокачествени тумори на стомаха на Запад, доскоро се ограничаваше предимно до диагностичната лапароскопия като допълнение към предоперативно стадиране и диагностика на пациенти за неoadювантно лечение на локално напреднали тумори, а напоследък и за LWR (Laparoscopic wedge resection) на стомаха за стромални тумори, карциноидни тумори и ранен стадий на аденокарцином. В последните години на Запад се въвежда все повече лапароскопска дистална, субтотална и тотална гастректомия за ранен и напреднал рак на стомаха. Въпреки че в сравнение с опита на източните страни, напредъка на запад е забавен, но бележи положителна насока в миниинвазивното лечение на стомашния рак в днешни дни.

За да се осигури същата ефективност на лапароскопската гастректомия (LG) като конвенционалната (отворена) гастректомия (OG), се спазват всички основни принципи - правилно диагностицирани пациенти, оптимални резекционни линии, D2 лимфна дисекция и no-touch принципа и др.

Ballesta-Lopez et al.<sup>261</sup> докладват за лапароскопски дистални гастректомии по Billroth 2. Те определят операцията като ефективна алтернатива на отворената техника, тъй като при всички пациенти е

извършена радикална операция с чисти резекционни линии (R0). Лимфната дисекция при миниинвазивния подход е сравнена с други публикувани доклади и е установено, че са сравними и няма статистически значима разлика. Наскоро Goh et al.<sup>262</sup> докладваха техния опит за извършени лапароскопски радикални гастректомии при пациенти с напреднал рак на стомаха. Те доказват, че миниинвазивната техника може да се извърши безопасно и в адекватни онкологични принципи. И четиримата пациенти са се раздвижили на 1<sup>-вия</sup> следоперативен ден, храненето с течности е било на 3<sup>-тия</sup>, а приема на твърда храна на 5<sup>-ти</sup> ден след операцията. Средната продължителност на болничния престой е 7 дни. Броя на изолираните ЛВ е 21 (диапазон 17-26). Пациентите са проследени в период от 6 месеца до 3 години. Всички пациенти са с преживяемост без данни за рецидив. Ретроспективно проучване на Weber et al.<sup>263</sup> също показва значителни ползи на лапароскопския подход при лечение на злокачествено заболяване на стомаха с адекватни онкологични принципи. Проучването доказва, че няма значителна разлика в броя на изолираните лимфни възли сравнено между лапароскопския и отворения метод. В допълнение, те описват чисти резекционни линии при всички пациенти оперирани миниинвазивно, докато туморна инвазия в резекционните линии има при 2<sup>-ма</sup> пациента в отворената група. Следоперативното проследяване на пациентите в срок от 18 месеца, не показва разлика в преживяемостта и не се доказва рецидив на троакарните места.

Извършването на интракорпоралната анатомоза при тотална гастректомия е основен проблем и риска от следоперативните усложнения, поставя под въпрос начина на изпълнение. Използването на

линеарни ушиватели при лапароскопска гастректомия е по - лесно и по - сигурно, тъй като линеарните стаплери са по тънки и имат по - добра подвижност на чупещото рамо в сравнение с циркулярните ушиватели. Нещо повече, с линеарните ушиватели може да се прецизира размера на анастомозата независимо от диаметъра на хранопровода и да се постигне по - широка анастомоза. В допълнение, линеарния ушивател спомага за намалено усукване на йеюналния край, което довежда до тежко следоперативно усложнение като стеноза на анастомозата. Най - често анастомозата е латеро - латерална. Има два метода на затваряне на отворите за линеарния стаплер, първия е с помощта на още един пълнител, а втория е с налагане на продължителен шев, което изисква по - голямо работно пространство и се налага дисекция на хранопровода около хиатуса, увеличаващо риска от хиатална херния. Също така се изискват специални умения за шиене, което може да доведе до повишено оперативно време.

Лапароскопската гастректомия, може да се приеме като безопасен начин за хирургично лечение при пациенти със стомашен рак. Освен това предоставя предимства на (HRQL) качеството на живот свързано със здравето, като операция с миниинвазивен достъп. Съществува схващане, че лапароскопския подход за лечение на рак на стомаха, трябва да бъде избран от хирурзи, които са висококвалифицирани в стомашната хирургия и със значителен лапароскопски опит.

В заключение, че лапароскопската гастректомия по повод стомашен карцином е сравнима с отворения подход по отношение на онкологичните резултати, с еквивалентни граници и адекватно изолиране на лимфни

възли, демонстрираща техническа осъществимост и подобна краткосрочна преживяемост без рецидиви<sup>264</sup>.

### 2.7.1 Диагностична лапароскопия с перитонеален лаваж

В някои реферирани центрове за лечение на стомашен карцином, диагностичната лапароскопия е задължителна като първа стъпка преди извършване на миниинвазивна или конвенционална оперативна техника при рак на стомаха<sup>265</sup>.

Клиничното стадиране може да бъде подобро чрез лапароскопия, тъй като, чрез нея може да се идентифицират интраабдоминално туморни депозити по перитонеланите повърхности, които не се откриват чрез предоперативни неинвазивни образни методи. Пациенти с перитонелано засягане, открито при лапароскопия, могат да бъдат пощадени от ненужна лапаротомия и това да е единствената им диагностична процедура.

Перитонеланата карциноматоза е най – честия тип на метастазиране и рецидивирание при стомашния рак<sup>266</sup>. Предполага се, че възникват дисеминирани лезии от свободни ракови клетки, експлодирани от инвазията на карцинома в серозата. За намиране на тези ракови клетки, някои японски хирурзи извършват перитонеален лаваж за цитологично изследване<sup>267</sup>. Наскоро прогностична стойност на положителните цитологични находки беше потвърдена и на Запад<sup>268</sup>. Ролята на цитологията по време на лапароскопия при напреднал рак на стомаха е спорен. В предишни доклади, цитология по време на лапароскопията не предоставя допълнителна информация в сравнение само с резултатите от лапароскопията<sup>269, 270</sup>.

Предоперативната химиотерапия има за цел да намали стадия на заболяването и смали основния тумор при локално авансирани процеси. Няколко проучвания доказват, че приложението на предоперативната химиотерапия е свързано с downstaging и високо ниво на радикалност в оперативната интервенция при нерезектабилни тумори<sup>271-273</sup>. При пациенти с напреднал стомашен рак, предоперативното стадиране е необходимо за преценка, използването на химиотерапия. Наскоро наличието на туморни депозити при диагностична лапароскопия, беше въведено като критерий за приложение на НХТ.

## 2.8. ICG – навигирана лапароскопска хирургия

Флуоресцентното изобразяване (FI) е един от най-популярните образни изследвания в биомедицинските науки за визуализация на клетки и тъкани както *in vitro*, така и *in vivo*<sup>274</sup>.

Предимствата на FI включват:

1. Висок контраст, т.е. съотношение сигнал / шум (SNR): видима е само целта, а не фон, тъй като за осветяване и запис се използват отделни дължини на вълните.
2. Висока чувствителност: изключително малки концентрации често могат да бъдат направени видими;
3. Дава молекулярна информация: прави видима част от (био) химията пространствено и във времето;
4. Чудесни инструменти за изследване: няколко възможни режима на изобразяване, повечето от които са уникални;

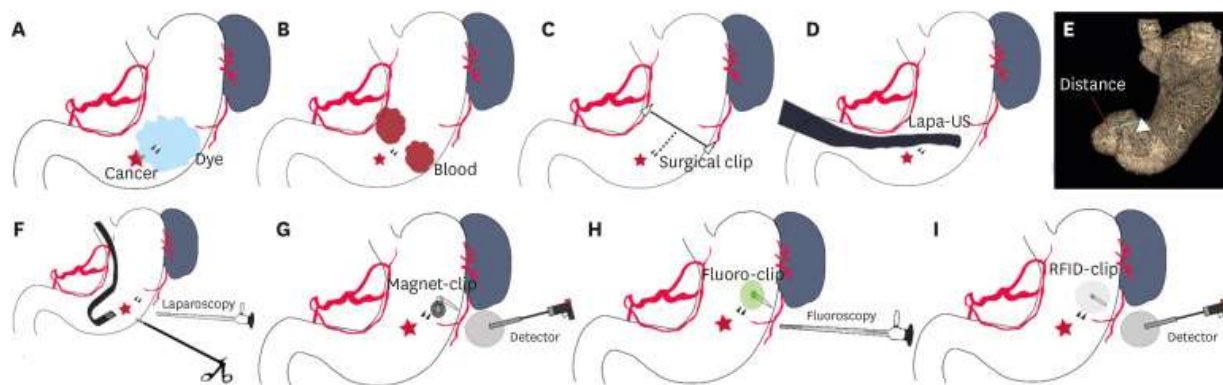
5. Евтини: необходимите оптични инструменти и изчисления, които са достъпни за употреба;

6. Лесен за използване: прилича на класическо оцветяване.

Флуоресцентния метод за изобразяване е сравнително нов метод за изображения и следователно все още се развива в много отношения. Това е изследване с индоцианиново зелено (ICG) в новите му клинични приложения, наскоро въведени в различни хирургични специалности в медицината, въпреки че се използва в някои клинични домени рутинно вече почти шестдесет години. По този начин ICG е добре познат в своите утвърдени клинични приложения, което значително улеснява въвеждането му в нови клинични области. От инженерна гледна точка обработката на изображенията и видеата изглежда е сред основните области, в които ICG изображенията (ICG) имат потенциал за големи разработки, например за анализ на динамиката на флуоресценция на ICG<sup>275</sup>. Това означава, наред с други неща, че все още е необходима детайлна разработка на компютри и устройства за по-широко използване на различни нововъзникващи базирани на ICG методи за образна диагностика<sup>276</sup>.

Осигуряването на оптимални резекционни линии е най-съществената и важна задача в оперативната хирургия. При лапароскопската хирургия, трудността е основно при определянето на местоположението на тумора. Досегашните методи като предоперативна ендоскопска маркировка с багрило и поставянето на клипове имат множество недостатъци.

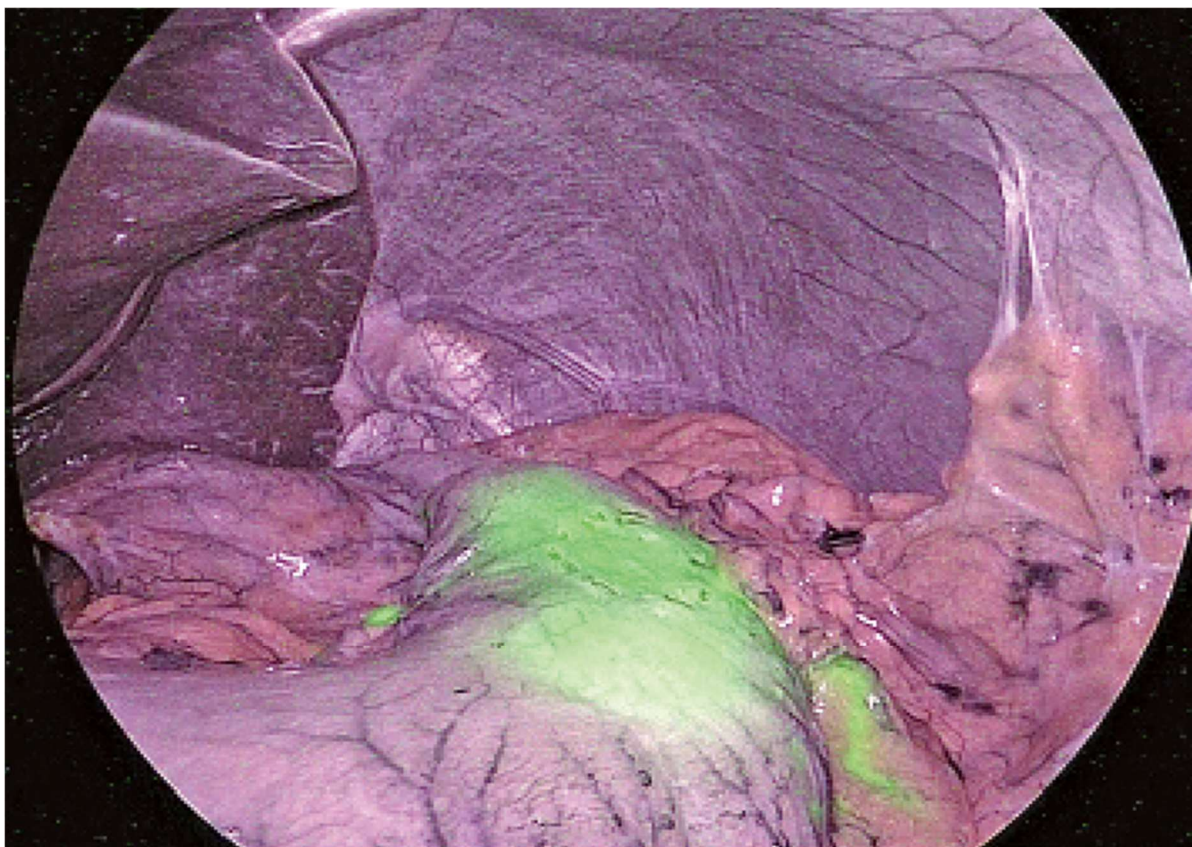
В Япония и други азиатски страни с висок дял на пациенти с рак на стомаха в начален стадий, се прилага предоперативно маркиране с мастило, а в Индия се прилага метода на клипиране, за да се определи точното местоположение на тумора по време на операция<sup>277-282</sup>. Въпреки това, използването на татуиране в Индия е довело до съобщения за нежелани реакции, като перитонит поради интраперитонеално пръскане на черно мастило и илеус поради адхезия, безопасността на тази процедура остава все още неясна<sup>283,284</sup>. В допълнение впръскването с мастило, създава възможност за разпростиране на течността по слоевете и за слабо до невъзможно разпознаване на границите на тумора и адекватното определяне на резекционните линии. От друга страна клипирането изисква тактилен усет, което не е приложимо в лапароскопската хирургия. Освен това, клипирането може да не бъде разпознато по време на лапаротомия поради задебелена стомашна стена или значителна мастна тъкан, което прави този метод ненадежден. Интраоперативната ендоскопия с маркиране чрез поставяне на клипове е тромав процес, тъй като времето се увеличава и е необходима подготовката на ендоскопистите. По този начин тези подходи изискват външни усилия, увеличават оперативното време, изискват допълнителни специалисти<sup>285</sup> (Фиг. 7).



Фигура 7. Предоперативно маркиране на тумора – А) багрило, В) Автоложна кръв, С) Хирургичен клип, D) Интраоперативна ехография, Е) 3D проекция, F) Интраоперативна ендоскопия, G) Магнитен клип, H) Флуороклип, I) Радиофреквентни системи

През последните години флуоресцентното изобразяване с индоцианиново зелено (ICG) заема важно място при лапароскопската хирургия.

ICG се свързва с плазмените протеини и излъчва флуоресценция след стимулация с помощта на лазерен лъч<sup>286,287</sup> или близка инфрачервена (NIR) светлина при дължина на вълната приблизително  $\geq 820$  nm<sup>288,289</sup>. Максимумът на абсорбция на ICG е приблизително 807 nm, докато емисионният максимум е приблизително 822 nm<sup>290</sup>. Излъчената ICG флуоресценция се открива, като се използва специална оптика и камера. Понастоящем ICG флуоресцентното изобразяване се използва за навигационна лапароскопска гастректомия или по - точно за определяне на местоположението на тумора, откриване на сентинелните лимфни възли и визуализиране на кръвния поток<sup>291-295</sup>(Фиг.8). Поради това метода се бележи с полезност и безопасност по време на лапароскопска гастректомия.



Фигура 8. Интраоперативна визуализация на тумора и лимфните възли

По време на миниинвазивна стомашна резекция местоположението на тумора може да бъде определено въз основа на образни изследвания или чрез усета на палпация, което е невъзможно при използване на лапароскопски инструменти. Освен това ранния стомашен карцином, не може да бъде видян и идентифициран, освен в случаите когато, това би могло да се установи с резистентност върху грасперите по време на операция. Дори при напреднал стомашен карцином, точната туморна локализация не може да бъде определена визуално лапароскопски, освен ако туморът не инвазира директно серозата. Освен това и при двата типа – ранен и напреднал стомашен рак, не би могло да се разпознае разпространението на тумора отвън на стомашната стена. Всички

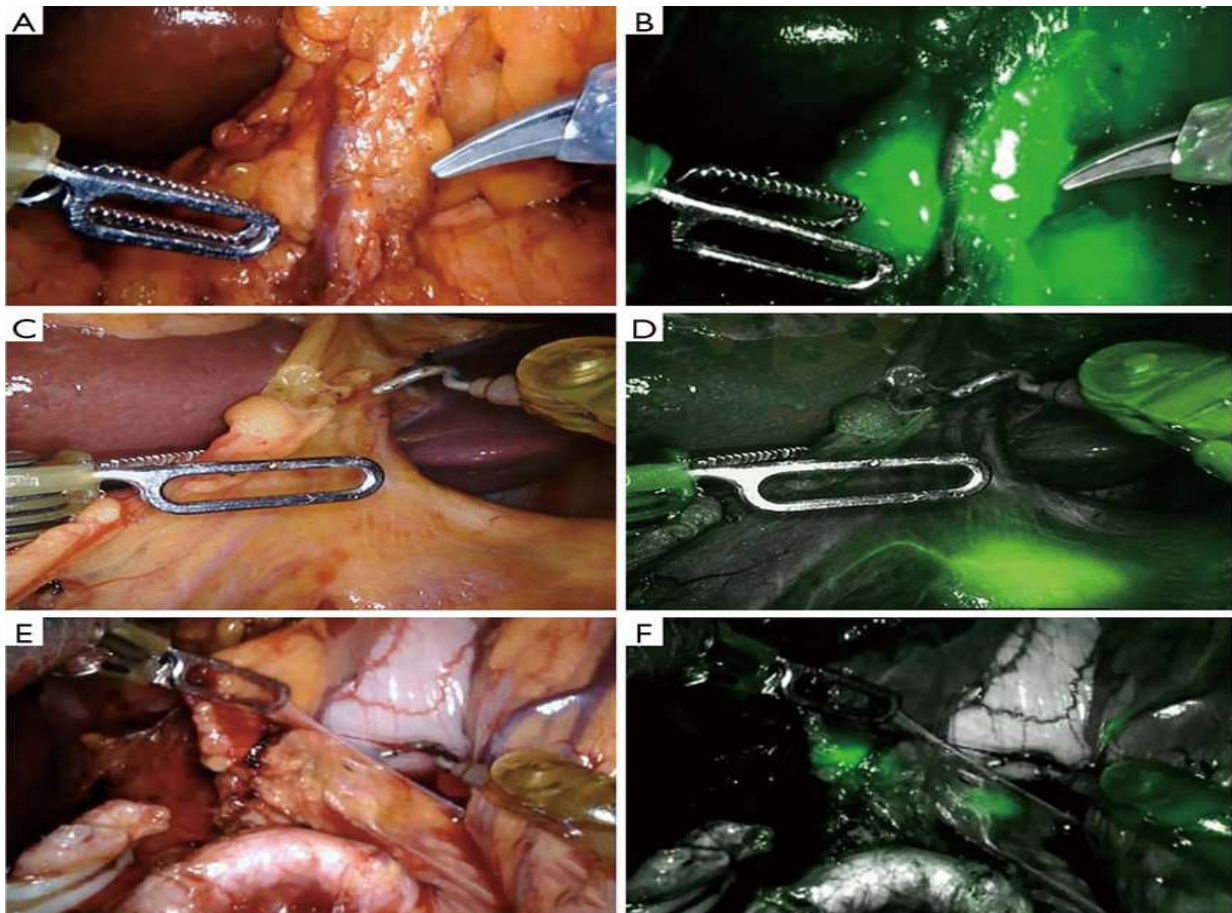
предишни изследвания са имали за цел да оценят чистите от туморна инвазия резекционни линии<sup>296,297</sup>. Bissolati et al. са доказали, че преживяемостта след операция по повод рак на стомаха е в пряка зависимост от статуса на проксималната резекционна линия<sup>298</sup>.

Tajima et al. са използвали флуоресценция ICG, за да потвърдят местоположението на тумора чрез локално инжектиране под ендоскопски контрол в стомашната стена от лигавичната страна преди гастректомия. Превключването между нормалния лапароскопски образ и флуоресцентни изображения е възможно с помощта на крачен превключвател и тъй като това може да се извърши в реално време, може да се оцени границата между тумора и стомашната стена, това дава възможност за определяне на резекционната линия. Тази технология е полезна, защото няма нужда да се екстериоризира стомаха от коремната кухина, за верификация на тумора по време на операция<sup>299</sup>.

Използване на ICG е довело до значително намален брой (R1), положителни резекционни линии при голям процент от пациентите. Метода е свързан със съкратено интраоперативно време, по – малко кръвозагуба и значително по-кратък следоперативен болничен престой, като не са отчетени досега нежелани реакции. ICG е безценен метод за маркиране, който може значително да улесни операцията при стомашен рак<sup>298</sup>.

Настоящите методи за предоперативно изобразяване на положителни лимфни възли са с ниска чувствителност<sup>300</sup>. Необходимо е по-добро интраоперативно стадиране на лимфните възли. Сентинелният лимфен възел може да бъде първото място на метастазиране по дългия път на

лимфния дренаж на тумора. Концепцията за сентинелните ЛВ е използвана рутинно при меланома и карцинома на млечната жлеза, където в зависимост от броя на сентинелните ЛВ е възможно извършването на лимитирана лимфна дисекция, при негативен статус на СЛВ <sup>301,302</sup>. Редица изследвания доказват точността и диагностичната стойност при изобразяването на СЛВ при ранен стомашен карцином <sup>302-312</sup>. Надеждността на SN метода, може да осигури възможност за модифициране на терапевтична стратегия и по този начин намаляване на оперативната травма, което би могло да подобри качеството на живот на пациента <sup>313</sup>. Техниката за SN биопсия при рак на стомаха се различава по проучванията. Някои групи са използвали багрило самостоятелно, други са използвали комбинация от багрило (ICG или метиленово синьо) и радиоактивен колоид, а някои използват електронна ендоскопия с инфрачервени лъчи (IREE) за откриване на ICG. След лимфното картографиране и изобразяване на позитивните ЛВ, се извършва SN биопсия и разширена лимфна дисекция (следвайки онкологичните принципи). Опциите могат да бъдат така нареченият метод за „избор на възел“ на SN срещу SN басейнова дисекция <sup>314</sup>(Фиг.9).



Фигура 9. Използване на ICG навигирана D2 лимфна дисекция при пациент с карцином на стомаха (роботизирана хирургия).

Сравнена с рутинната лапароскопска гастректомия, данните показват, че ICG – навигираната лапароскопска гастректомия може значително да увеличи броя на лимфните възли при лимфна дисекция със сходни краткосрочни и дългосрочни резултати. Лимфаденектомията е от решаващи значение за стадирането и следоперативното преживяване и е предизвикателство за хирурзите. Според проучването на Xiaofeng Lu et al. ICG – навигираната лапароскопска хирургия, може да помогне на хирурга да извърши ефективна и безопасна лимфна дисекция<sup>315</sup>.

Поради по-голямата дължина на вълната, ICG под NIR изображения показва по-добро проникване в тъканите и по-добра визуализация на

лимфните възли от хипертрофична мастна тъкан в сравнение с други наблюдавани багрила с невъоръжено око<sup>316</sup>. Следователно, ICG-модифицираното NIR флуоресцентно изображение може успешно да се прилага за идентифициране на лимфен дренаж и сентинелни лимфни възли по време на лапароскопска гастректомия<sup>317,318</sup>. Освен това D2 лимфната дисекция е от съществено значение за точното патологично стадиране на рака на стомаха за последващото лечение и е свързана с оцеляването на пациентите<sup>319,320</sup>.

Ефектът на ICG върху броя на изолираните лимфни възли е непостоянен според предишни проучвания. Lan et al. съобщава за еднаквост в общия брой лимфни възли, извлечени от 14 пациенти с ICG и 65 пациенти без ICG<sup>321</sup>. Kwon et al. и Kim et al. са установили, че чрез ICG-ръководената лапароскопска гастректомия броя на изолираните лимфни възли в сравнение с рутинна операция е по-голям<sup>322,323</sup>. Неотдавнашно рандомизирано проучване показва, че ICG значително подобрява броя на изолираните лимфните възли, извлечени при D2 лимфаденектомия, без да увеличава риска от усложнения<sup>324</sup>.

Според Xiaofeng Lu et al. начинът на инжектиране на ICG е ключов фактор, който влияе върху качеството на изображенията. Традиционно приложението на ICG включва субсерозно и субмукозно инжектиране около тумора<sup>325-329</sup>. Предишни проучвания предполагат, че субмукозната инжекция е по-добра от субсерозната инжекция при интраоперативно откриване на лимфни възли<sup>330</sup>. А субсерозната инжекция често причинява изтичане на ICG и хирургично замъгляване на оперативното поле<sup>331</sup>. В

изследване при субмукозна апликация на ICG, предишни проучвания предлагат предоперативно инжектиране на ICG<sup>323,333</sup>, тъй като са приели, че изисква време на ICG да се разпространи по лимфните възли и удължава времето за операция. Предполага се, че визуализацията на лимфните възли чрез ICG могат да подобрят лимфаденектомията. Независимо от това, остава да се определи подходящият подход и време за прилагане на ICG при лапароскопска гастректомия.

Няма литературни данни за повишаване на честотата на усложненията при прилагане на ICG<sup>326-329</sup>. Предполага се за еднакъв болничен престой, между ICG и не – ICG групите, като не се нарушава процеса на възстановяване след операция. Няма данни за краткосрочни и дългосрочни усложнения на нито един пациент, няма докладвани пациенти с реоперация по повод следоперативни усложнения. Всичко това потвърждава, че ICG – навигираната лапароскопска гастректомия е полезен и безопасен метод.

## 2.9. Лимфна дисекция при стомашен карцином

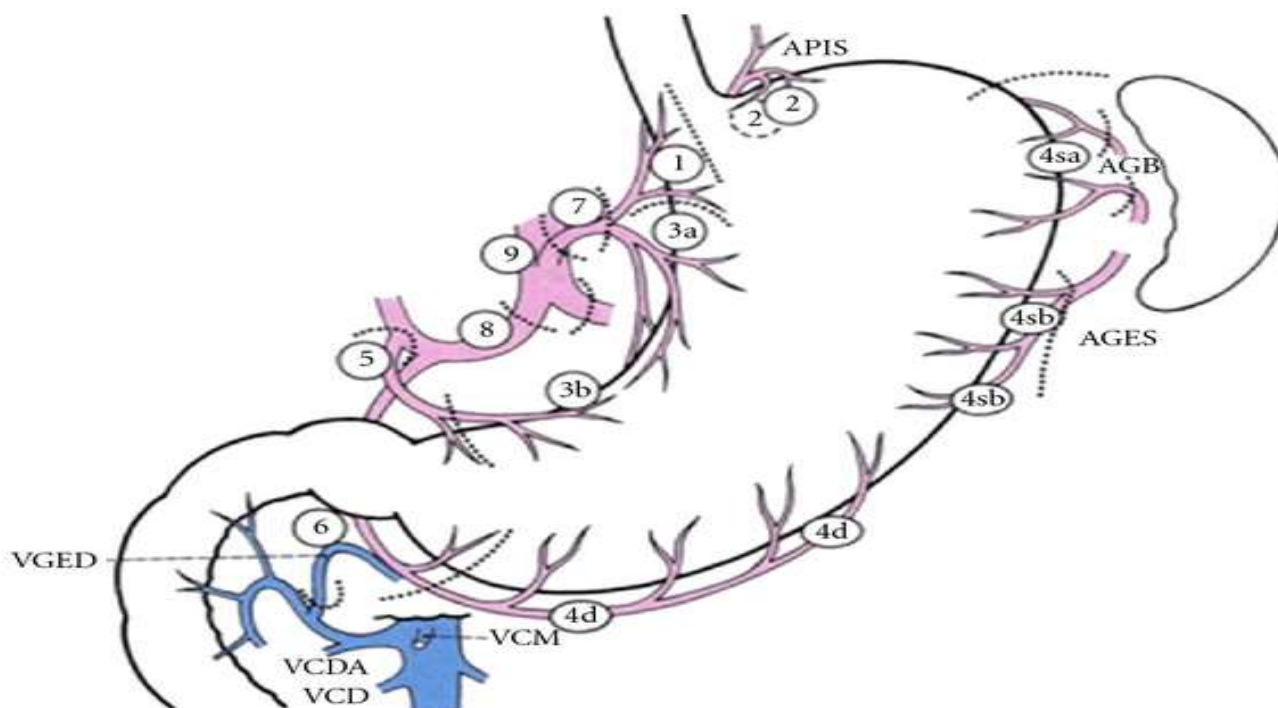
Хирургичната резекция, остава основният терапевтичен метод при резектабилен стомашен рак. По отношение на хирургичната процедура, лимфната дисекция на регионалните лимфни възли се счита за важна част от резекцията en bloc за рак на стомаха. Въпреки това има значителни разлики в степента на лимфаденектомия извършена от хирурзи в различните страни.

В Япония D2 лимфната дисекция се препоръчва като стандартна практика от 60-те години на миналия век<sup>334</sup>. Източноазиатските хирурзи, особено Япония и Южна Корея, рутинно извършват D2 лимфна дисекция. За сравнение западните хирурзи извършват гастректомия с D1 лимфна дисекция, тъй като е свързана с по – малко смъртност и заболяемост. В проспективни рандомизирани проучвания, проведени в Холандия и Обединеното кралство, стигат до заключение, че няма полза за преживяемостта за D2 спрямо D1 лимфната дисекция<sup>335, 336</sup>. D2 лимфната дисекция, при недостатъчно хирургично обучение е свързана с висока заболяемост и смъртност, често извършване на дистална панкреатектомия и спленектомия, които на практика са ненужни и свързани с повишена заболяемост и смъртност<sup>337</sup>(Табл. 7)

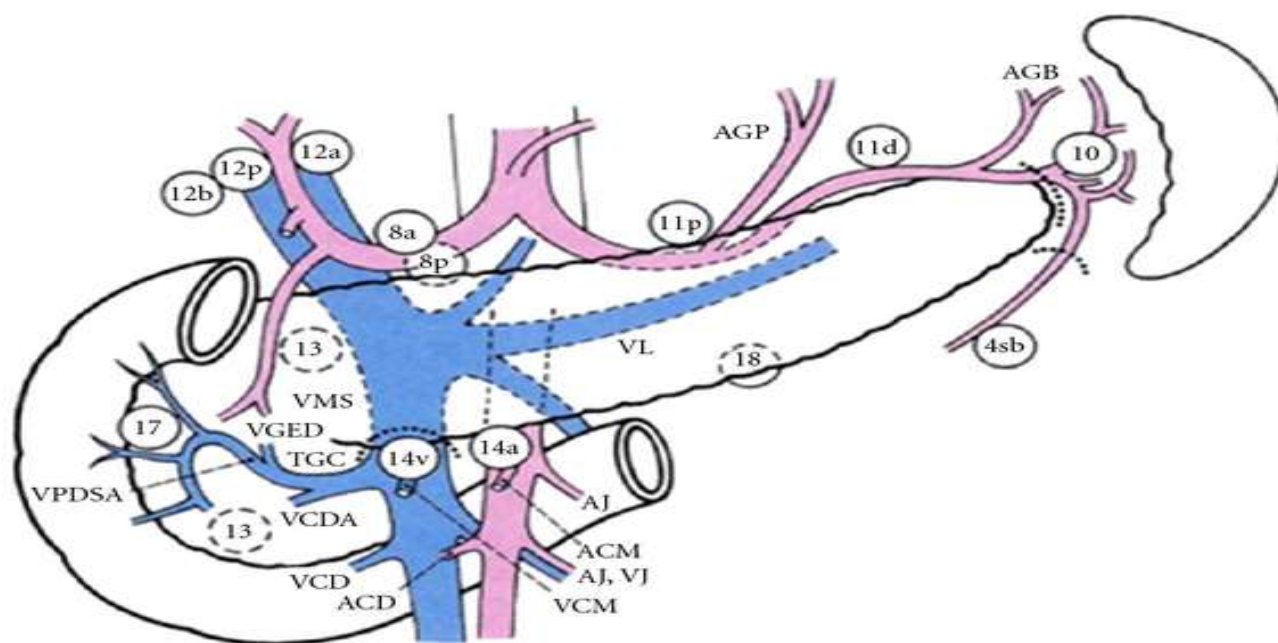
Автор	Брой пациенти	Обем лимфаденектомия	Следоперативни усложнения (%)	Смъртност (%)	5-годишна преживяемост (%)
Bonenkamp et al.	711	D1	25	4	45
		D2	43	10	47
Cuschieri et al.	400	D1	28	6.5	35
		D2	46	13	33

Таблица 7. Следоперативни резултати при D1 и D2 радикална хирургия при стомашен рак – Холандско и Британско проучвания (Schwartz`s Manual of Surgery, 11 ed. Under ed. F.Ch. Brunnicardi)

Лимфните възли на стомаха са подредени в класификацията на Японската асоциация за рак на стомаха (JGCA). (Фиг. 10)



( a )



( b )

Фигура 10. Лимфните възли на стомаха според (JGCA)

Според тази класификация лимфните възли около стомаха са разделени на 20 станции и те са класифицирани в три групи в зависимост от местоположението на първичния тумор. Тази система за групиране се основава на резултатите от изследвания на лимфния поток в различни туморни места, заедно с наблюдаваната преживяемост, свързана с метастази във всяка възлова станция<sup>338</sup>. В тази групираща система повечето перигастрални LN (станции № 1–6) се дефинират като група 1, докато възлите по протежение на лявата стомашна артерия (станция № 7), обща чернодробна артерия (станция № 8), plexus coeliacus (станция № 9), arteria splenica (станция № 11) и arteria hepatica propria (станция № 12) са определени като група 2. Необходими са малки модификации на тази групираща система в зависимост от местоположението на първичния тумор. D1 гастректомията се дефинира като дисекция на всички възли от група 1, а D2 се дефинира като дисекция на всички възли от група 1 и група 2.

Засягането на лимфните възли е в зависимост от туморната инвазия. Когато тумора е локализиран в мукозата T(Tis) на стомаха, честотата на метастазите в РЛВ е около 2-3%, докато при T1, честотата се показва на 15-20% за метастази в РЛВ<sup>339</sup>. Ето защо лимфната дисекция при стомашния рак се превърна в стандарт при всяка резекция. Основния въпрос по който се дискутира в световен мащаб е обема на лимфната дисекция<sup>340</sup>. Според съвременните автори, отговора на въпроса е когато се подхожда селективно, в зависимост от стадия на заболяването и индивидуалния статус на отделния пациент<sup>341,342</sup>. Наличието на богата лимфна мрежа с множество субсерозни и субмукозни комуникации, създаващи възможност за ранно интрамурално разпространение на малигнени

клетки в непредвидими посоки е една от характерните особености на стомашния карцином. Поради богатото кръвоснабдяване и широката лимфна мрежа дренираща стомаха и съседните органи, лимфната дисекция има ключова роля за късните резултати от оперативното лечение.

Броят на изолираните метастатични лимфни възли се използва като прогностичен фактор по отношение на преживяемостта при пациенти с резектабилен стомашен карцином . Според последното английско издание на Японската класификация за стадиране на стомашен карцином лимфните дисекции се обозначават като четири вида според регионите и нивата (компарменти) с лимфни възли, които обхващат<sup>344,345</sup>. При D0 – няма лимфна дисекция или е отстранен частично I-ви компартмент, при D1 - дисекцията обхваща I компартмент, D2 – включва I+II компартменти, D3 – включва I+II+III компартменти. Лимфаденектомията над тези нива се обозначава като D4 и включва ретроперитонеалните парааортални възли, параколичните, около горната мезентериална артерия и други, в зависимост от локализацията на тумора.

Стандартната лимфаденектомия D1 и разширената D2 включва I и II компартменти. Адекватността на лимфната дисекция се определя броя на изолираните лимфни възли. Според JGCA са нужни най – малко 28 лимфни възела, за да е постигната D2 лимфната дисекция<sup>343</sup>.

Отново остава дискутабилен въпроса сред публикациите на някои автори, дали разширената лимфаденектомия (D2) подобрява преживяемостта или само допринася за по – адекватно стадиране при пациенти със стомашен карцином<sup>345</sup>.

Доклад на мултицентрично проучване обхващащо 771 пациенти провели лечение в 80 болници в Холандия, разглежда болни, на които е извършена радикална хирургична интервенция по повод рак на стомаха. В анализа са включени морбидитета, морталитета, преживяемостта и рецидивите. При D2 лимфната дисекция се наблюдава по – висока честота (38%) на спленектомия в сравнение с D1 (11%). Постоперативните усложнения за значително по малки при D1 (25%), за сравнение при D2 (43%). Следоперативната смъртност е 10% при D2, а при D1 е два пъти по – ниска. Същевременно не е отчетена съществена разлика в петгодишната преживяемост. Рискови фактори за следоперативно усложнения са : самата D2 лимфна дисекция, спленектомията, дисталната резекция на панкреаса и пациенти над 70 годишна възраст. Изследване във Великобритания се основава на 400 пациента с карцином на стомаха в стадий I-IIIВ. В зависимост от вида на лимфаденектомията морбидитета е 28% при D1 и почти два пъти по – висок при разширената лимфна дисекция. Морталитета е 6,5% за D1 и 13% за D2. Оказва се че при D1 лимфната дисекция 5 – годишната преживяемост е по – добра. Авторите излизат със заключение за извършване на D2 лимфна дисекция, само когато е необходимо при положителен нодален статус(N2), а не при всеки пациент. Те препоръчват също така извършването на спленектомия и дистална панкреатектомия да се извършва само при абсолютни показания и индивидуална преценка на пациентите (bodi mass index, кардиопулмонален статус, възраст и др.), защото напредналия стадий се движи в права пропорционалност следоперативните резултати. Данните от проучванията рязко се отличават с показателите на японските автори по показателя смъртност до 2%<sup>346,347</sup>. По отношение на обема лимфна дисекция, съпровождаща радикалната хирургична резекция, въпроса

остава спорен, дали трябва да бъде съпроводена задължително с разширена D2 лимфна дисекция, както се препоръчва от Японската Медицинска Общност или с лимитираната D1 дисекция, не е ясно.

J. Siewert<sup>348</sup> поддържа тактиката на строго селективен подход по отношение обема на лимфната дисекция, съобразен най-вече с туморната локализация. При тумори в дисталната трета на стомаха – обема на лимфаденектомията е D2 + 12-ти + 13-ти региони. При туморите в средната трета – D2 дисекция. При проксималните локализации на стомашния рак се предвижда D2 дисекция + 10-ти +11-ти +16-ти региони . Обосновката за този по-агресивен подход е особеността в дренирането на лимфната система от проксималната трета на стомаха към тези области.

Разширената лимфна дисекция при резектабилен стомашен карцином, води до подобряване на преживяемостта в IB, II, IIIA стадий, като за II и IIIA стадий е необходимо да се изолират повече от 25бр. лимфни възли. В другите стадии разширената лимфна дисекция влияе основно на локалните рецидиви, но не и на преживяемостта<sup>345</sup>.

## 2.10. Неoadювантно лечение при стомашен карцином

### 2.10.1 Подобряване на резектабилността след неoadювантна химиотерапия.

Стомашната резекция с чисти резекционни линии (R0 резекция) се счита за най-ефективното лечение на рак на стомаха и е свързана с подобрена дългосрочна преживяемост<sup>349,350</sup>. Когато стомашният

карцином достига до субмукозата, може да се лекува само хирургично, с преживяемост от 70% - 95%. При локално авансиралите тумори, прогнозата е по - лоша, поради високата степен на нерезектабилност и значително по високата честота на рецидив след операция, поради това е нужно комплексно лечение, което да започне преди оперативното отстраняване на тумора<sup>351</sup>.

За пръв път полза от ХТ са докладвани през 80<sup>-те</sup> години на миналия век, за тройната комбинация epirubicin, cisplatin и 5-Fu (ECF) при пациенти с локално и локорегионално авансирала болест. Честотата на обективен отговор (ЧОО) е между 49 и 56%<sup>352</sup>. Логично, тази комбинация е изпитвана за постигане на отговор и при операбилен карцином и първите сигнали за полза от предоперативна химиотерапия са публикувани още през 2006 г. с резултатите от проучването на Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy (MAGIC). В него са включени 503 пациенти с локално авансирал резектабилен карцином във всички неметастатични стадии като основната част от пациентите са с висок напреднал стадий – cT2-3, cN1-3. В контролното рамо са включени пациенти, при които е проведено хирургично лечение, а експерименталното лечение се състои първо от неoadювантната ХТ (3 цикъла ECF), последвана от хирургия и още три цикъла ХТ. Данните сочат, че добавянето на предоперативна химиотерапия води до значимо подобрене на 5-годишната обща преживяемост с 13% (36% спрямо 23%), както и на честотата на далечните и локалните рецидиви. Така, освен редукцията на риска от смърт с 25%, се регистрират и множество ползи от неoadювантната химиотерапия: значимо по-малък туморен обем на първичния тумор (downsize) и брой на

метастатично засегнати регионални ЛВ след лечение, както и промяна със снижение на стадия на болестта (downstage)<sup>353</sup>.

В западния свят две трети от пациентите със стомашен карцином са с локално авансирани тумори (International Union Against Cancer [UICC] 1 Stage IIIA, IIIB или IV) по време на диагностицирането. Шансът за постигане на пълна резекция на тумора само чрез операция в тези случаи е по-малък от 50%<sup>351</sup>. През последните 15 години се правят опити да се използва предоперативна химиотерапия с двойни цели 1) намаляване на първичния тумор за увеличаване възможността за успешна пълна резекция и 2) унищожаване на окултни лимфни възли и отдалечени метастази, за да се намали честотата на рецидив на тумора. Във фаза II проучвания на неoadювантна химиотерапия пациентите с клиничен отговор са имали значително по-добра прогноза от неотговарящите пациенти, особено когато е извършена пълна (UICC R0) резекция.

Наскоро, фаза 3 на рандомизирано проучване на немската група AIO показва подобрена обща преживяемост (15.6% срещу 5.8%) сред пациенти с операбилен стомашен рак, които са получили нова комбинация неoadювантна ХТ: oxaliplatin, docetaxel, calcium folinate и fluorouracil (FLOT) вместо комбинацията cisplatin, epirubicin, и fluorouracil или capecitabine.

Предоперативната ХТ придоби широка разпространеност като стандарт за лечение в много региони на Европа. Тъй като capecitabine се приема през устата и е не по-малко ефективен от 5-Fu при пациенти в напреднал стадий, capecitabine-съдържащият режим също може да бъде предложен като предоперативен (като ECX: epirubicin, cisplatin, capecitabine, за предпочитане пред ECF). Например platine/5-Fu дублет или

триплет може да се използва: особено oxaliplatinе да измести cisplatinе като EOX (epirubicin, oxaliplatinе, capecitabine); не е с по-лоши резултати от ЕСХ при метастатичен стадий.

Към момента се приема, че FLOT е най-ефективният предоперативен химиотерапевтичен режим при карцином на стомаха и гастроезофагеална връзка<sup>352</sup>.

Предоперативната ХТ дава множество предимства и информативна стойност, за разлика от адшвантната ХТ. На първо място е тестването на туморния отговор *in vivo* и оценка на отговора към лечение, което дава ценна информация и насоки за следоперативното лечение. При пациенти при които липсва достатъчен терапевтичен отговор, се създава възможност да се търсят нови терапевтични схеми или ХТ режими.

Наличните данни показват, че неoadювантната химиотерапия е осъществима и не увеличава следоперативната заболяемост и смъртност. В сравнение с резултатите, които днес могат да бъдат получени с първична резекция и лимфаденектомия, обаче, предоперативната химиотерапия досега не е успяла да покаже ясно увеличение на степента на пълно отстраняване на тумора при пациенти с резектабилен рак на стомаха. При пациенти с локално напреднал или нерезектабилен рак на стомаха, предоперативната химиотерапия може значително да редуцира локорегионалната туморна маса и по този начин да се извърши радикална оперативна намеса. Това откритие е шанс за тези, които реагират на химиотерапия и имат последваща пълна резекция на тумора. Поради сериозни недостатъци в начина на изследването и на публикуваните доклади, не могат да се направят категорични заключения от наличните изследвания. Следователно рандомизираните контролирани

проспективни проучвания са ясно оправдани. Точното предоперативно туморно стадиране, стандартизирани техники за резекция и лимфаденектомия, внимателна оценка на биопсичния материал са от съществено значение при подбор на тези пациенти, които могат да се възползват от неoadювантна химиотерапия за стомашен карцином.

Усложненията след стомашна хирургия по повод карцином могат да бъдат различни. Най-честите усложнения след гастректомия за рак на стомаха са белодробно засягане, инсуфициенция на анастомозата, интраабдоминален абсцес и инфекция на рани<sup>355-358</sup>. При пациенти с рак на стомаха, провели неoadювантна химиотерапия, последвана от резекция, следоперативната заболеваемост варира от 23% до 40% и смъртността от 0% до 10%<sup>356-359</sup>.

Проведно е изследване в Шанхайската източна болница Tongji University между декември 2016 г. и април 2018 г.<sup>360</sup>, в което са включени пациенти с локално напреднал рак на стомаха, които са получили FLOT неoadювантна химиотерапия, последвана от лапароскопска гастректомия с D2 лимфна дисекция. Изследването цели оценка на ефикасността и безопасността. Пациентите са на възраст между 18–75 години със стомашен аденокарцином (стадий cT3–4 и / или N + M0) и са подложени на неoadювантна FLOT терапия (четири предоперативни и четири следоперативни 2-седмични цикъла). Лапароскопската гастректомия е планирана 3-4 седмици след завършване на последния цикъл на предоперативна химиотерапия. Степента на клинична ефикасност е 69,6%. Процентът на резекция на R0 е 91,3%. Само един пациент е показал следоперативни усложнения. Патологичната пълна ремисия е 13%. Честите

нежелани реакции от химиотерапията са левкопения (17,4%), неутропения (30,4%), анемия (13%), анорексия (13%) и гадене (17,4%). Следоперативни усложнения са настъпили при 5 пациенти (26,1%). Не е имало смъртност свързана с лечението или реоперация. Най-голямата причина да не се завърши химиотерапията е молбата на пациента<sup>361</sup>.

Тези открития предполагат, че неoadювантната химиотерапия FLOT, последвана от лапароскопска D2 гастректомия, е ефективна и безопасна при нерезектабилен и напреднал рак на стомаха<sup>362</sup>.

### 2.10.2 Неoadювантна лъчетерапия

Въз основа на проучването Intergroup 0116, химио-лъчелечението в Съединените щати се извършва най-често след операцията. Предоперативната лъчетерапия обаче предлага редица теоретични предимства. Първо, целевите тъкани са по-добре сатурирани преди операцията, а лъчетерапията е по-ефективна срещу кислородни тъкани<sup>363</sup>. Второ, предоперативната лъчетерапия терапия позволява извършването на R0 резекция (дефинирана пълно остраняване на първичния тумор с чисти резекционни линии). Само 25-40% от пациентите със стомашен аденокарцином са резектабилни и подлежат на радикална хирургична операция<sup>364</sup>. Проучване в Пекин демонстрира подобрене в процентите на резекция от 79% само при операция до 89,5% при прилагане на предоперативна лъчетерапия<sup>365</sup>.

Стомашният аденокарцином е радиочувствителен тумор. Wieland и Нутмен са използвали само лъчетерапия при пациенти с нерезектабилен рак на стомаха. Дозата на облъчване е 60 Gy, във фракции от 1,5 до 2,0 Gy.

Те отбелязват 11% (9 от 82) 3-годишна и 7% (5 от 72) 5-годишна преживяемост<sup>366</sup>. Abe and Takahashi съобщават за 14,7% 5-годишна преживяемост с интраоперативна лъчетерапия (28 до 35 Gy) при група от 27 пациенти със стадий IV заболяване. В същото проучване не е имало 5-годишна преживяемост при 18-те пациенти с IV стадий, рандомизирани в контролно рамо<sup>367</sup>.

Предоперативното облъчване също има потенциални рискове. Може би най-забележителното е, че значителна част от пациентите са недостатъчно клинично стадираны и въз основа на това могат да бъдат подложени на ненужно лъчение. Wonenkemper et al. съобщават, че 29% от отговарящите на критериите хирургични пациенти са били открити при лапаротомия с перитонеални, чернодробни и други далечни метастази – 4 клиничен стадий<sup>368</sup>. Следователно предоперативната клинична оценка с ендоскопски ултразвук, КАТ на корем или диагностична лапароскопия са от изключителна важност преди започване на лъчетерапията.

### 3. Основни изводи от литературния обзор

1. Диагностициран в ранен стадий, карцинома на стомаха може да бъде напълно лечим.
2. В България липсва механизъм за ранна диагностика и адекватно стадиране на рака на стомаха, за разлика от западните и източно азиатските страни.
3. Липсва общоприет алгоритъм за оценка на локалния статус и резектабилността на тумора при пациентите с карцином на стомаха.
4. Дискутабилен остава въпроса за правилния терапевтичен подход, включително и за вида на хирургичната интервенция – той трябва да бъде съобразен с индивидуалните особености на пациента.

## 4. Цел, работна хипотеза и задачи

### 4.1 Цел

**Да се оцени значението на нови диагностични и терапевтични методи подобряващи хирургичния радикалитет при стомашния карцином.**

### 4.1 Работна хипотеза

Увеличава ли се възможността за хирургична радикалност при пациенти със стомашен карцином, чрез прилагане на съвременни диагностични и терапевтични методи, оптимизиращи предоперативното стадиране?

## 4.2 Задачи

Задача 1: Да се проучат генетични мутации при пациенти с карцином на стомаха и да се определи значението им за резектабилността.

Задача 2: Да се проучи връзката на индивидуалните особености – пол, възраст и индекс на телесна маса на пациентите с карцином на стомаха с резектабилността му в изследваната кохорта.

Задача 3: Да се установи има ли връзка между стойностите на някои основните маркери на възпалението – левкоцити, фиброноген и СУЕ с резектабилността на карцинома на стомаха.

Задача 4: Да се установи има ли връзка между стойностите на туморните маркери СЕА и СА 72-4 с резектабилността на карцинома на стомаха.

Задача 5: Да се оцени приложението на PET/CT в диагностиката и стадирането на карцинома на стомаха.

Задача 6: Да се определи значението на лапароскопията за предоперативното стадиране и възможността за постигане на онкологична радикалност при хирургичното лечение на стомашния карцином.

Задача 7: Да се създаде предоперативен алгоритъм подобряващ хирургичния радикалитет при стомашния карцином.

## 5. Материал

Настоящият дисертационен труд анализира общо 209 пациенти с хистологично доказан карцином на стомаха. От тях 131 (62,7%) са от мъжки пол, а 78 (37,3%) са от женски. Средната възраст на всички изследвани пациенти е 63,9г., като най – младия пациент е на 33г., а най – възрастния на 86г. Ретроспективен анализ е направен на 141 пациенти преминали през Клиниката по хирургия на УМБАЛ “Александровска” – София за периода 2005-2013 г. Шестдесет и осем пациенти са проследени проспективно през време на подготвяне на дисертационния труд (2014 – 2020 г.) като 64 от тях са преминали през клиниката по хирургия на УМБАЛ „ Александровска“, както и 4 пациента, оперирани в клиниката по хирургия на Университетска болница Saint Pierre – Брюксел за периода от януари 2018 до януари 2019г. Всички пациенти са разделени на две групи в зависимост от резектабилността на тумора. За нерезектабилни тумори се приемаха тези, при които не е възможно осъществяването на радикална хирургична интервенция, включваща отстраняването на целия тумор без макроскопски видима остатъчна малигнена тъкан в ложето, лимфните възли и/или далечни локализации, без наличие на макроскопски и микроскопски негативни резекционни линии, както и тези с наличие на метастази в черния дроб или белия дроб, карциноза на перитонеума, метастази в ретроперитонеалните лимфни възли и наличие на малигнени клетки в цитологичното изследване на перитонеален лаваж.

При 27 от пациентите се направи генетичен анализ за най – честите соматични мутации в панел от 16 гена. При пациентите бяха взимани

предоперативни кръвни изследвания за пълна кръвна картина и туморни маркери. Извършвахме антропометрични измервания на ръста и теглото, като изчислявахме ИТМ при 57 от тях. Стадирането на пациентите е извършено с помощта на адбминална ултрасонография (при 100% от изследваната кохорта), CT-scan (при 72%) и PET-CT(47,8%).

## 6. Методи

### 6.1 Антропометричен метод

Измерването на ръста се осъществяваше с ръстомер градуиран в см, а на теглото с везна с неавтоматично действие с мерителна единица килограм. Изчисляваше се индексът на телесна маса (ИТМ) според формулата на Quetlet

$$\text{ИТМ} = \text{тегло(кг)}/\text{ръст (м)}^2$$

### 6.2 Диагностични методи

#### 6.2.1 Лабораторен метод

На всички пациенти предоперативно, взимаме венозна кръв при приемането в клиниката по хирургия, за изследване на основните маркери на възпалението – левкоцити (3,5-10,5 G/l), фибриноген (от 18 до 65г.

<7,1mmol/l, а над 65г. <8,2mmol/l) и СУЕ с референтни стойности за мъже 1-15mm/h и за жени 1-20mm/h.

#### 6.2.2 Цитологичен метод

Перитонеалния лаваж се центрофугираше, подготвяше и след анализ се оценяше по Papanicolaou classification. (Табл. 8)

Групи по Pap	Описание
Pap 1	нормални клетки
Pap 2	атипични клетки, без белези на малигненост (с възпалителни промени)
Pap 3	атипични клетки, съмнителни за малигненост, без тя да е очевидна
Pap 4	атипични клетки, силно внушаващи за малигненост
Pap 5	атипични клетки, със сигурни морфологични данни за малигненост

Таблица 8. Papanicolaou classification

#### 6.2.3 Хистологичен метод

От всеки изследван пациент с карцином на стомаха, следоперативно се изследва туморната тъкан в целия и обем и определяне на хистологичния вариант, диференциацията на тумора и типа по Лаурен, здравия стомашен остатък, проксималната и дисталната резекционна

линия и изолираните лимфни възли, които бяха изпращани на патолози за изготвяне на траен хистологичен препарат.

## 6.2.4 Апаратно – инструментални методи

### *6.2.4.1 Фиброгастроскопия*

При всички пациенти диагнозата е поставена след извършване на стандартна фиброгастроскопия, определяща наличието на тумор и локализацията му. В хода на изследването са взимани от 4 до 7 биопсии от различни места на тумора за хистологична верификация.

### *6.2.4.2 Ехография на коремни органи*

Ултразвукът е много широко приложим метод за диагностициране на различни заболявания. При всички пациенти използвахме ехограф - General Electric с трансдюсер 3,5MHz, чрез него, ние оглеждаме коремните органи в реално време. Отчитаме морфологичната структура на черния дроб и наличието или не на вторични метастатични лезии, както и наличието на свободна течност - асцит. Лимфните възли обикновено не са видими, но при напреднал туморен процес могат да се открият пакети около големите кръвоносни съдове.

#### *6.2.4.3 Рентгенография на бял дроб*

В настоящия дисертационен труд, всички пациенти предоперативно бяха стадираны с рентгенография на бял дроб за оценка на пулмонарния статус – наличие или не на вторични метастатични лезии, инфилтрация към диафрагмата, плеврални изливи и др.

#### *6.2.4.4 Компютърно – аксиална томография на корем с контраст*

Подготовка на пациента за изследването:

На всеки пациент бе взимано информирано съгласие. Ако пациента е алергичен следва тестуване и консултация с алерголог. Изследвахме бъбречната функция  $K^+$ , креатинин и урея с цел използване на контрастно вещество, в деня на изследването.

Протокол за изследване на пациента:

На първо място, подготовката започва с изпразване на стомаха, като пациентите не приемат нищо през устата в продължение на 5 часа преди изследването.

Изследването с компютърна томография извършвахме с интравенозно инжектиране на йодиран контрастен материал, което е задължително за разграничаване на патологичната тъкан от нормалната лигавица и за получаване на полезна информация за локорегионалния

туморен и лимфен статус. Обикновено се инжектира количество от 100-150 ml (средно от 1,5 ml / kg телесно тегло) при скорост 3-4 ml / sec.

Оптимизирането на инфузията на интравенозния контрастен агент е от съществено значение спрямо времетраенето на сканиране при компютърната аксиална томография на корем с висока разделителна способност. Въпреки че порталната венозна фаза, извършена на 60-70 секунди от интравенозното инжектиране, обикновено е достатъчна за правилно изследване на стомашните стени, допълнителна артериална фаза, проведена на 30-35 секунди от интравенозната инфузия, е полезна за стадиране на стомашни първични лезии и за по-добра оценка на границата между туморната и нормалната стомашна тъкан (Т). Обикновено артериалната фаза се извършва за горната част на корема, докато порталната венозна фаза включва сканиране на гръден кош, корем и малък таз, за пълно стадиране в частност (N) и (M) стадий.

Всъщност болус проследяването и автоматизираните технологии обикновено се използват, за да се получи правилна двуфазна техника, базирана на характеристиките на пациента.

С цел предизвикване хипотония/хипомотилитет на стомашната стена и червата се прилага интрамускулно или интравенозно 20mg butylscopolmanine bromide преди скенеграфското изследване.

#### *6.2.4.5 Ядрено – магнитен резонанс на корем с контраст*

Всички изследвания с ЯМР бяха проведени на един магнитен резонанс (TIM Trio, Siemens Healthcare) със стандартна, 24- канална фазова масивна намотка. Образните изследвания провеждахме най-малко след 8 часovo гладуване от страна на пациентите. Непосредствено преди

изследването, пациентите трябваше да изпият от 500-1000ml вода, за да разтегнат стомаха. Пет минути преди започване на изследването, интравенозно инжектирахме 20mg butylscopolmanine bromide венозно, за да минимизираме перисталтичните движения. В следствие дифузионно претеглено изображение (DWIs) беше получено, чрез използване на специална техника за задържане на дъха и еднократно ехо – планирано изобразяване с дифузионни градиенти, приложени в три ортографски посоки, използвайки b стойности 0, 100, 500 и 1000mm<sup>2</sup>/sec. При всички изследвани пациенти сме използвали интравенозен контраст от линеен тип съдържащи гадолиний (MAGNEVIST) в доза от 0,1mmol/kg телесно тегло, като бърза болусна инжекция със скорост 3ml/sec. Изображенията в артериалната фаза бяха получени, 8 секунди след като контраста навлезе в коремната аорта, което е доказано с MR флуороскопия, след което бяха получени портални, чернодробни, венозни и равновесни изображения при приблизително 50sec, 90 sec и 180 sec след прилагането на контрастното вещество.

#### *6.2.4.6 Позитронна емисионна томография (PET-CT)*

Подготовка на пациентите.

Всеки един от пациентите, които попадат в изследваната група преминаваше през няколко задължителни етапа предхождащи преценката за извършване на PET-CT изследване.

Първата базова стъпка беше наличието на медицинско обосновано искане за провеждане на PET-CT, което най-често се издава от онколог, лъчетерапевт, хирург или друг вид специалист.

През втория етап преглеждахме на медицинското досие на пациента, със специален акцент върху водещата диагноза (вид на малигнения тумор), онкологичната анамнеза и съответната коморбидност (особено скорошно прекарани инфекция/възпаление и захарен диабет). Провеждахме кратко интервю с пациента/близките му с оглед уточняване и разясняване на показанията за провеждане на процедурата, като основно се събираше и отбелязваше информацията във връзка със злокачественото заболяване, дати и резултати от проведени образно-диагностични процедури, оперативни интервенции, резултати от биопсия и патологични изследвания, вид на проведено до този момент лечение (лъчетерапия, химиотерапия и др.) и текущи лекарства.

Следващият списък показва в обобщен вариант всички аспекти, обсъждани по време на прегледа:

- о Данни за тумора и/или за други познати туморни/метастатични локализации.
- о Онкологична анамнеза и съответна коморбидност (особено инфекция/възпаление и захарен диабет).
- о Неврологични или психиатрични клинични състояния, включително предполагаеми неврологични паранеопластични синдроми.
- о Височина и телесно тегло (те трябва да се определят точно в случай на измервания на SUV). Теглото измервахме директно преди всяко изследване с FDG PET-CT, тъй като то често се променя по време на хода на заболяването.
- о Серумна глюкоза, дата, час.

- о Пълен преглед на настоящите и наскоро използвани лекарства, особено (но не само) антидиабетни лекарства, кортикостероиди, растежни фактори и седативи. В случай на оценка на ефекта от проведената терапия: вид и дата на последната терапевтична интервенция.
- о Резултати от други образно-диагностични тестове (особено СТ, MRI и предишни PET-СТ), включително дати на получаване, пълни доклади и, ако е възможно, данни на DICOM от посочените изследвания за сравнение.
- о Алергия към контрастни вещества. Ако провеждането на FDG PET/CT изследване с венозно контрастно вещество е крайно необходимо, насочващия лекар-специалист да посочи протокола за премедикация, за подготовката на пациента.
- о Бъбречна функция. Трябва да са налични актуални резултати за стойностите на серумния креатинин, ако се използва интравенозно контрастно вещество.

В края на проведения преглед клиничният проблем беше ясно формулиран и аргументиран. Всички пациенти бяха обсъдени за налична история за диабет и съпътстваща терапия, наличие/липса на анамнеза за клаустрофобия, както и способността на пациента да лежи неподвижно с ръце поставени над главата си по време на изследването (15–20 минути).

Използван радиофармацевтик

- Продукт: 18F-флуоро-2-дезоксиглюкоза (FDG)
- Нуклид: Флуор-18

Дозировка/активност: Зависи от системата, времето за една позиция(легло) и теглото на пациента.

Администрация: интравенозно приложение.

Контрол на качеството: Съответствие с Европейската фармакопея в Европа.

Флуор - 18 е циклотрон-произведен радиоизотоп на флуор, който излъчва позитрони и има кратък полуживот (109,7 минути). Това позволява неговото маркиране с многобройни молекулни трейсъри, както и генериране на изображение в рамките на няколко часа (обикновено <3 часа) след инжектиране.

Най-често използваният трейсър в момента е 18F-флуоро-2-дезоксиглюкоза (18F-FDG). Натрупването на FDG в тъканите е пропорционално на количеството оползотворяване на глюкозата. Повишената консумация на глюкоза е характерна за повечето видове ракови клетки и отчасти е свързана със свръхекспресия на преносителите на глюкоза(GLUT) и повишена активност на ензима хексокиназа.

При всички пациенти проведехме 18F-FDGPET-CT по стандартен или целотелесен протокол след поне 6-8 часа на гладно. Стойностите на кръвната глюкоза преди инжектирането на радиофармацевтика бяха в рамките на допустимия диапазон 7 -10 ммол/л. За пациенти със слабо контролиран диабет и високи нива на кръвната захар, 4-12 единици бързо действащ инсулин инжектирахме подкожно поне 4 часа преди интравенозното аплициране на 18F-FDG.

Средно около 60-90 минути преди сканирането на пациента инжектирахме 18F-FDG с активност около 3-3,5MBq/kg. От съществено значение за получаване на качествени образи е пациентите да ограничат

вербални контакти и двигателни дейности през времето на акумулация на радиофармацевтика преди началото на регистрацията. За целта този престой се провежда в специално конструирани боксови помещения, където външните условия са така регулирани, че да осигурят максимален комфорт на тялото.

Използвана апаратура, протокол на изследване и регистрацията.

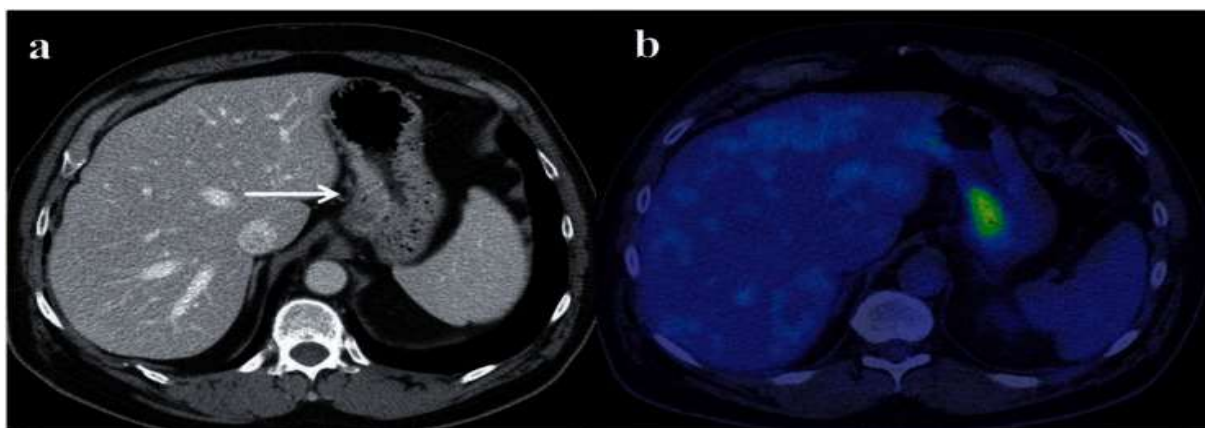
Изследването извършвахме с използването на хибридна апаратура (DiscoveryPET/CT 600, GEHealthcare), на която се извършва последователна регистрацията на СТ и PET – изображения.

За голяма част от нашите пациенти беше използван стандартен протокол на PET/CT изследванията. Той включва обем на сканиране от върха (или базата) на черепа до средната част на бедрата (т.нар Torso imaging, който е стандарт за Европа и САЩ, като покрива повечето от най-релевантните области при оценката на онкологични заболявания). Стандартно пациентите са с ръце, вдигнати над главата, за избягване артефактите от неадекватна корекция на разсеяното лъчение, особено в абдоминална и тазова област. При насочено търсене на патологичен процес в областта на главата и шията е желателно ръцете да са до тялото.

Компютърно–томографското изследване беше реализирано с помощта на 16-срезов спирален СТ-апарат за отслабване на разсеяното лъчение и структурно-анатомична локализация, със следните параметри: дебелина на срезове при сканиране 3,75мм, дебелина на реконструирани срезове 1,25мм, DFOV 70 см, реконструкционна матрица 512 x 512(матрица на дисплея 1028). Скоростта на въртене на

тръбата е 0,8 s, 27,50mm за една ротация, pitch-фактор 1,375:1. Токът, който се използва е с автоматична модулация и стойности на напрежението в диагностичния обхват - 120kV. При провеждане на изследването без интравенозно контрастно усилване данните от СТ бяха събирани при ток 30-250mA, напрежение 120kV и бяха коригирани спрямо телесното тегло на пациента. В условията на интравенозно контрастно усилване, СТ параметрите бяха – ток в диапазон 30-440 mAs и напрежение 120kV. Всички пациенти получиха орален контраст (100mL диатризоат натрий с концентрация на йод 249.64mg/mL, разреден до общ обем от 1000mL). Апликацията на контрастния агент (Ultravist 100) беше осъществено с помощта на автоматичен инжектор в обем от 100 ml, със скорост 2-3 ml/s и закъснение от 40-60 секунди. След приключването на СТ скенирането следваше регистрацията на емисионен запис в посока от средна трета на бедрата до основата на черепа (при съмнение за малигнен меланом, от основата на черепа към бедрата).

Използваните параметри на позитронно емисионната томография бяха съответно: средно 7-8 легла в зависимост от ръста на пациента и използвания протокол (Torsoimagingили Whole-body imaging). Едно PET-легло покрива разстояние от 116-117mm, което отнема между 2 и 5 минути. Трансаксиалната разделителна способност на PET е със стойност на FWHM (FullWidthHalfMaximum) – 5,5mm. Матрицата е 256x256, статичен тип на скениране, припокриване на леглата – 23,4%. Метод на PET реконструкция – VUEPointHD (Фиг. 11).



Фигура 11. КАТ на коремни органи с контраст (а) и ПЕТ-СТ(б) при пациент в Т2 стадий на стомашен карцином, разположен по малката кривина – наблюдава се поглъщането на 18F-FDG.

#### *6.2.4.7 Диагностична лапароскопия*

Пациентите бяха под обща интубационна анестезия, в положение по гръб с разтворени крака. Операторът беше между краката на пациента, а асистента на камерата от лявата му страна. Използваше се лапароскопска колона с източник на светлина, инсуфлатор, монитор, аспирационна система. Методите за достъп до коремната кухина бяха „отворен“ по метода Hasson (периумбиликално) или с помощта на игла на Верес. Пневмоперитонеума беше с константно налягане (12mmHg) като се използваше CO<sub>2</sub>. Периумбиликано поставяхме 1x10мм метален троакар за еднократна употреба и 2x5mm метални троакари съответно по лява и дясна медиоклавикуларна линия (на около 15см под ребрената дъга) за работните инструменти. Експлорацията започваше с оглед повърхността на черния дроб, оментума, париеталния и висцералния перитонеум, малкия таз в позиция екстреман Тренделенбург. Наличния асцит се аспирираше в спринцовка и се изпращаше за срочно цитологично изследване. Лаваж за цитологични клетки се направи при всеки пациент, в лапароскопската

група, като се лаважираха последователно ляв и десен горен квадрант – субфренично и в малкия таз в позиция – екстремн Тренделенбург. Лаважът се аспирира съответно с 3 различни спринцовки по 50мл, изпраща се за срочно цитологично изследване и оценка по Papanicolaou classification (Табл.8). Извършва се оглед на стомашната стена за наличие на инвазия на тумора в съседни структури. Хепатодоуденалния лигамент и порта хепатис също бяха изследвани. В случай на суспектен лимфен възел с клиничен стадий IV, извършвахме биопсия.

### 6.3 Генетични методи

След извършване на стомашната резекция се взимаше проба от туморната и нормална стомашна тъкан с помощта на ножица, като материалите се поставяха в специално обособени за целта контейнери с предварително надписани върху тях даннит на пациента. Материалите се изпращаха за верификация на типа тъкан (тумор/норма) от патолог и се съхраняваха в RNAlater (RNA Stabilization Solution for Tissue) при -80°C за продължителен период. Изолирането на ДНК започваше след третиране на материалите с хипотонични буфери за разрушаване на клетките и ядрата. Белтъците се обработваха с протеинази в присъствието на етилендиаминтетраоцетна киселина (ЕДТА) и детергенти, а ДНК-молекулите се екстрахираха чрез изсолване. Изолираше се високомолекулна ДНК с Chemagen-полуавтоматичната сепарираща система, базирана на използването на магнитни частици в присъствието на електромагнитно поле или посредством колонен

метод (QiaAmp DNA Mini Kit, Qiagen). Изолираната ДНК беше висококачествена с минимални примеси на белтъци, РНК и гликопротеини, като качеството и беше оценявано с помощта на 0.8% агарозна електрофореза. За визуализиране на фрагментите беше използван етидиев бромид с концентрация 0.05 µg/ml, а количеството на изолираната ДНК се оценяваше спектрофотометрично.

Беше използван кит за мултиплексен анализ на лигирани проби (Multiplex Ligation Probe Amplification-MLPA Holland: SALSA MLPA KIT P458 Gastric Cancer), в който са включени сонди за гените PIK3CA, EGFR, CDK6, MET, GATA4, FGFR1, MYC, PTP4A3, FGFR2, CCND1, KRAS, KLF5 , ERBB2, TOP2A, GATA6 и CCNE1. Всяка проба от кита се състоеше от два олигонуклеотида (сонди), с дължина между 130 и 500, които хибридизират в непосредствена близост до таргетната последователност и по време на PCR-реакцията всички лигирани последователности се амплифицираха посредством една двойка праймери. Един µl от всяка проба се смесваше с 0.5 µl флуоресцентно белязан стандарт (GeneScan 600 LIZ) и обемът се довеждаше до 14 µl с дейонизиран формамид. Пробите се денатурираха и се разделяха на капилярна електрофореза с помощта на секвенатор ABI Prism 3130 xl (Applied Biosystems), а електрофореграмите се визуализираха чрез GeneMapper Software и Coffalyser.Net Software. Освен проби за съответните екзони на анализирани гени, MLPA-китът включваше и референтни проби, съдържащи сонди за други участъци от генома. За референтните проби стандартното отклонение за всяка сонда беше < 0,10. Използвани бяха най-малко 3 референтни контролни проби или на всеки 7 проби, една беше референтна контрола. Референтните контроли бяха от същия биологичен материал, от който е изолирана и

пробата, в случая изолираната ДНК от нормалната тъкан на стомаха, като бяха с максимално близко качество и количество до изследваните проби. При количествения анализ за наличие на делеции/дупликации на гените се извършваше сравнение между площта на пиковете, представляващи отделните екзони, тази на съседните референтни проби, както и площта на пиковете на референтни контроли, които са подложени на MLPA-анализ и електрофоретично разделяне при еднакви условия, успоредно със съответната проба. Използваните при MLPA анализа консумативи и условия са представени в таблица 9.

Условия на MLPA анализа					
Компоненти на реакционната смес		Параметри на работните условия			
1 ден		PCR програми без нагряване на капака на апарата			
Денатурация		Етап	Температура	Време	
ДНК (15 ng/ µl)	5 µl	Денатурация	98 °C	5 min.	
Парафин	10 µl	Съхранение в апарата	25 °C	∞	
Хибридизация		Етап	Температура	Време	
SALSA Probesmix	1 µl	Денатурация	95 °C	1 min.	
SALSA MLPA буфер	1 µl	Хибридизация	60 °C	18 h.	
Общ обем	2 µl	Съхранение в апарата	54 °C	∞	
2 ден		PCR програми без нагряване на капака на апарата			
Лигазна реакция		Етап	Температура	Време	
SALSA буфер А	2 µl	Лигиране	58 °C	15 min.	
SALSA буфер Б	2 µl	Деактивиране на ензима	98 °C	5 min.	
SALSA Ligase – 65	0,66 µl	Денатурация			
dH <sub>2</sub> O	16,66 µl	Съхранение в апарата	20 °C	∞	
Общ обем	21,32 µl				
PCR реакция		PCR програми с нагряване на капака на апарата			
SALSA PCR праймери	1,32 µl	Етап	Температура	Време	
SALSA полимераза	0,32 µl	Брой цикли: 35	Денатурация	95 °C	30 sec.
dH <sub>2</sub> O	5 µl		Хибридизация	60 °C	30 sec.
Общ обем	6,64 µl		Синтез на нова верига	72 °C	60 sec.
Краен обем	34,96 µl	Краен синтез		72 °C	20 min
		Съхранение в апарата		15 °C	∞

Условия на капилярната електрофорезата

Апарат	ABI Prism 3130 xl	Микс за електрофорезата	
		Компонент	Количество
Флуоресцентно багрило за беляване на праймерите	FAM	PCR	1 µl
		LIZ	0,5 µl
		HI DI Formamide	12,5 µl
		Общ обем	14 µl

Таблица 9. Използвани при MLPA анализа консумативи и условия.

## 6.4 Статистически методи

Mean – средна аритметична стойност

Median – медиана

SD – стандартно отклонение

Min – минимална стойност

Max – максимална стойност

t – статистически критерий (t – критерий)

df – степени на свобода

p – ниво на статистическа значимост

### 1. Дескриптивна статистика

- Количествените променливи са представени чрез обобщаващите статистически характеристики - средна аритметична (Mean), медиана (Median), стандартно отклонение (SD);
- Категорийните променливи са представени чрез абсолютни честоти (n) и относителни честоти (%)

### 2. Методи за проверка на хипотези

- 1) Тест на Колмогоров-Смирнов при една извадка (One-Sample Kolmogorov-Smirnov test) за проверка на формата на честотните разпределения при количествените променливи.

- 2) Хи-квадрат тест (Chi-square test) или точен тест на Фишер (Fisher's exact test) – при изследване на зависимости между описателни (категорийни) данни с две или повече категории.
- 3) Т-тест при две независими групи (Independent-Samples t-test) – при нормално разпределение на изследваната променлива в сравняваните групи.
- 4) Непараметричен тест на Ман-Уитни (Mann-Whitney test) при сравняване на две независими групи когато формата на честотното разпределение е различна от формата на нормалното разпределение.
- 5) Рангов корелационен коефициент на Спирмън (Spearman's rho) – при изследване на корелационната зависимост между две количествени променливи, когато разпределението не следва нормалното разпределение.

Приетото критично ниво на значимост е  $\alpha=0,05$ . Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато р стойността (p-value) е по-малка от  $\alpha$ .

За обработка на данните от проучването е използван специализирания статистически пакет SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) версия 16.0

## 6.5 Хирургични методи

На всеки пациент предоперативно се назначава 2g Ceftriaxon, преди инцизията, който беше продължаван в следоперативния период по преценка на хирурга. При всеки пациент бе поставян уретрален катетър и НГС.

### 6.5.1 Лапароксопски

Пациента е в положение по гръб с разтворени крака, като операторът се намира между краката на пациента, асистента на камерата от дясната страна на болния, а вторият асистент от лявата.

Лапароскопията се осъществяваше чрез два вида достъп до коремната кухина, чрез игла на Veress или по отворения метод на Hasson. За операцията бяха необходими 3 или 5 троакара. Използвахме 2 вида троакари според използваемостта – за еднократна и многократна употреба, 4 вида според диаметъра – 5mm, 10mm, 11mm и 12mm троакари. Създаваше се изкуствен пневмоперитонеум с CO<sub>2</sub> до 12 mmHg. Използвахме 10mm 30° ригидна оптика със стандартна дължина и набор от лапароскопски инструменти. Местоположението на троакарите при пет троакарната техника беше както следва – 10mm троакар за многократна употреба при Hasson техниката и 11mm троакар за еднократна употреба (Jonson&Jonson) се поставяше супра или интраумбиликално в зависимост от хабитуса на пациента, през който се въвеждаше оптиката на ендоскопа. По дясна медиоклавикуларна линия поставяхме 12mm троакар за

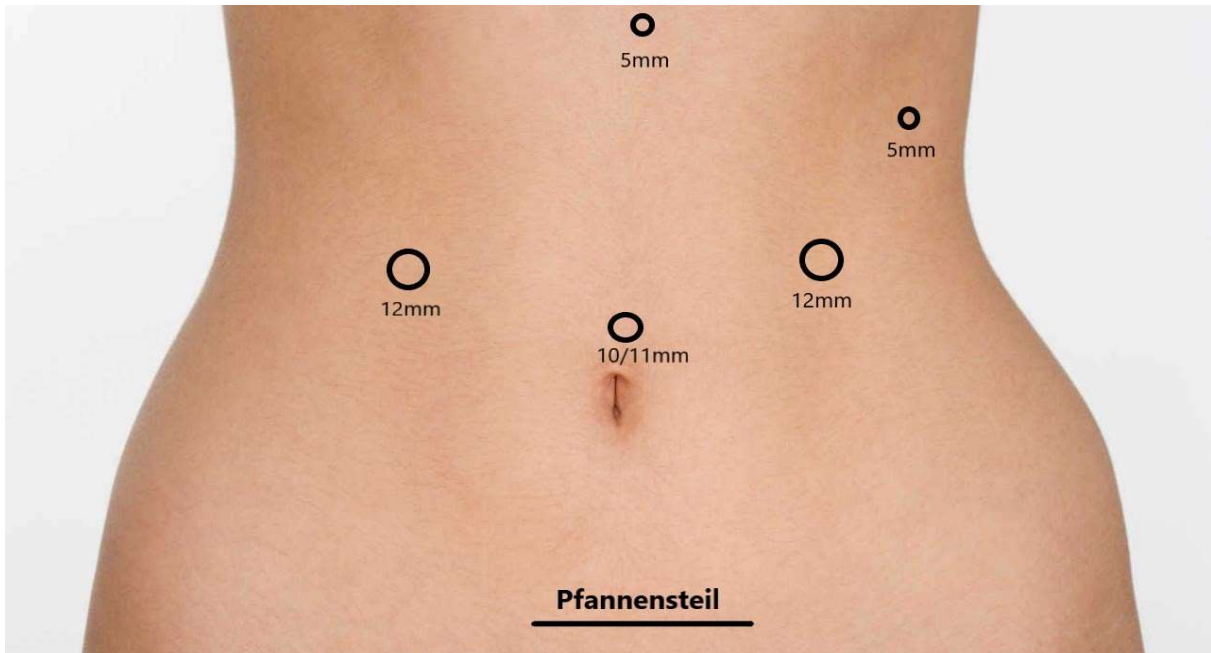
еднократна употреба (Jonson&Jonson) за лявата ръка на оператора. По лява медиоклавикуларна и предна аксиларна линия 2x5мм троакари за многократна употреба, съответно за дясната ръка на оператора (мека клампа без заключващ механизъм с възможност за коагулация) и граспер за втория асистент. Субксифоидално поставяхме 5мм троакар за многократна употреба, с чернодробен ретрактор за втория асистент (Фиг.12). Другите инструменти (за доминантната ръка на хирурга) са коагулираща кука, ножица, както и аспирация и ултразвуков скалпел - Ethicon's HARMONIC Ultracision (Фиг.16).

За три троакарната техника поставяхме един 10мм троакар супраумбилкално, един 12мм троакар по лява медиоклавикуларна линия и един 12мм троакар по дясна медиоклавикуларна линия (Фиг. 13).

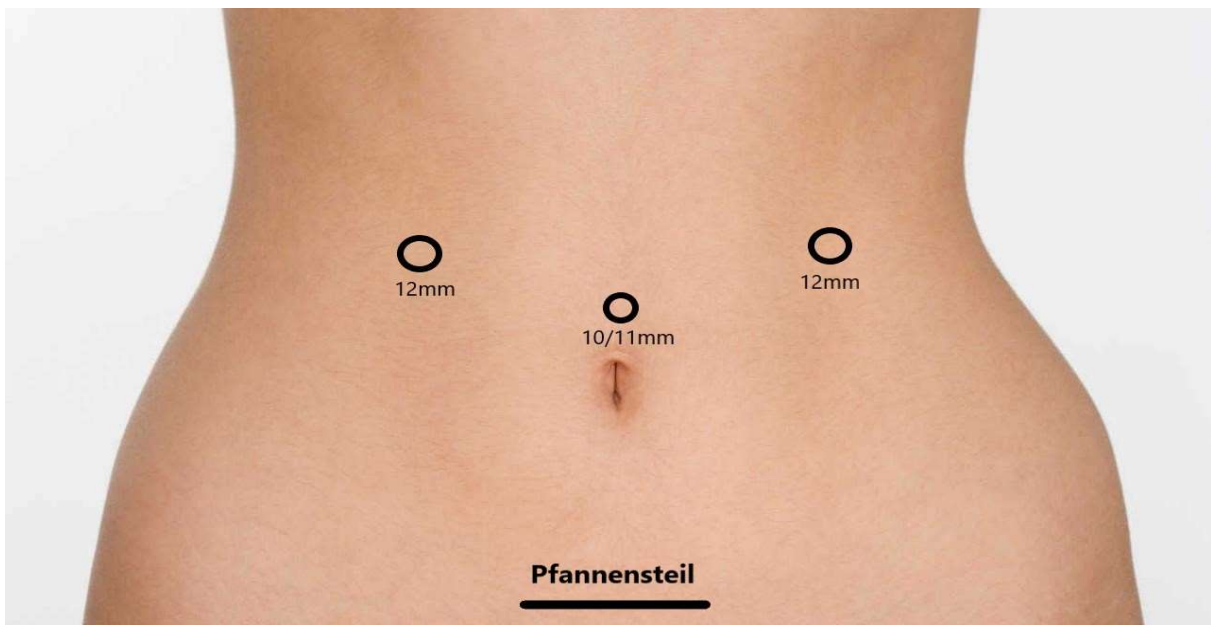
Перитонеален лаваж от четирите квадранта се изпращаше за цитологично изследване на атипични клетки и оглед на коремната кухина включително на малкия таз в положение екстремен Тренделенбург. Започва се с оментектомия, като оментума се отделя дясната флексура по хода на колон трансверзум, след това се навлиза в bursa omentalis, лигира се а. et v. gastroepiploica dextra, като се запазва а. gastroduodenalis. Мобилизиране на антрума по малка кривна, където се дисектира и лигира а. gastrica dextra. Лимфна дисекция в хепатодуоденалния лигамент на региони 12a, 12b, 12p (Фиг.14). Мобилизиране на дванадесетопръстника. Определяне на дисталната резекционна линия. Дуоденума се прекъсва с помощта на линеарен стаплер (Фиг.15) - Echelon 60mm (син пълнител, 3.5mm, 6 реда), въвеждан в коремната кухина през 12мм троакар. Дисекция по lig. hepatogastricum каудално, като се дисектира и лигира а. gastrica sinistra. Дисекция по голямата кривина и последователно лигиране

и прекъсване на гастролиеналните съдове (aa. gastricae breves). Определя се проксималната резекционна линия в зависимост от локализацията на тумора по онкологични принципи и с помощта на един или няколко линейни стаплери (Фиг.15) - Echelon 60mm (син пълнител, 3.5mm, 6 реда) се прекъсваше стомаха. Ушивателя се въвежда в коремната кухина през 12mm троакар. Извършвахме лимфна дисекция в басейна на *tuncus coeliacus* на региони – 7, 8a,8p и 9 (Фиг. 14). Лимфна дисекция по хода на *a. splenica* и в хилуса на слезката – региони 11p, 11d и 10. Гастроеюналната анастомоза се извършваше по два начина. С помощта на линейни стаплери Echelon 60mm (син пълнител, 3.5mm, 6 реда) или мануално на два етажа със синтетични монофиламентни, резорбируеми конци PDS2/0. При тотална гастректомия използвахме двата начина на изпълнение на анастомозата – с помощта на линейен стаплер и извършване на латеролатерална анастомоза или лапароскопска сатура мануално с продължителен шев, на два етажа, по типа T-T Roux en Y езофаго-йеюно анастомоза. При пациентите с механична стаплерна анастомоза също се извършва се извършваше обходна анастомоза, по Roux en Y, термонолатерална на 50 см от лигамантум Treitz с бял пълнител 45mm (2,6mm, 6 реда). Задължително се извършваше водно-въздушна проба за херметичност на гастро(езофаго) йеюналната анастомоза. Затваряхме мезентериалните дефекти с конец Prolene 2/0 както следва: мезентериалния дефект – циркулярен шев, а пространството на Petersen с продължителен шев. Поставяхме назойеюнална сонда с помощта на анестезиологичния екип под лапароскопски визуален контрол. 2 коремни тръбни дрена – един към дуоденалния чукан и един контактен до анастомозата – при всички случаи. Спесимена се изваждаше чрез миналапаротомия по Pfannenstiel, с помощта на протективен сак и Wound

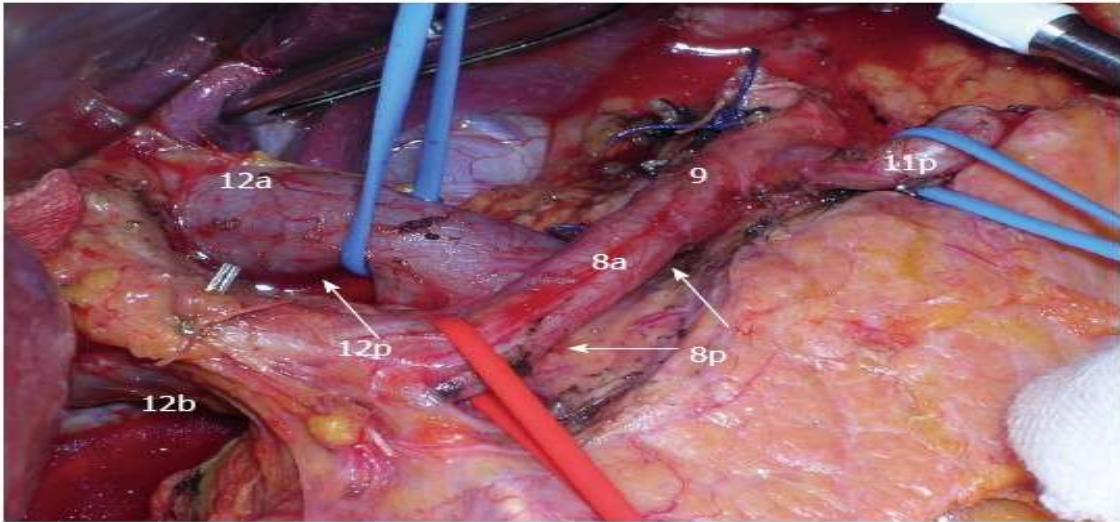
Protector Retractor (Фиг.12,13). Троакарите се изваждаха под визуален контрол и последваща щателна десуфлация. Троакарния достъп на 12mm троакар затваряхме с 1 Z - образен шев с помощта на endoclose. Фасцията на 10(11)mm троакарен достъп зашивахме с резорбируем конец 1 Vicryl - Z образен шев.



Фигура 12. Лапароскопска гастректомия с 5 – троакарен достъп



Фигура 13. Лапароскопска гастректомия с 3 - троакарен достъп



Фигура 14. Част от D2 лимфна дисекция



Фигура 15. Механичен гъвкав, линеарен стаплер Echelon



Фигура 16. Ултразвуков скалпел - HARMONIC ACE

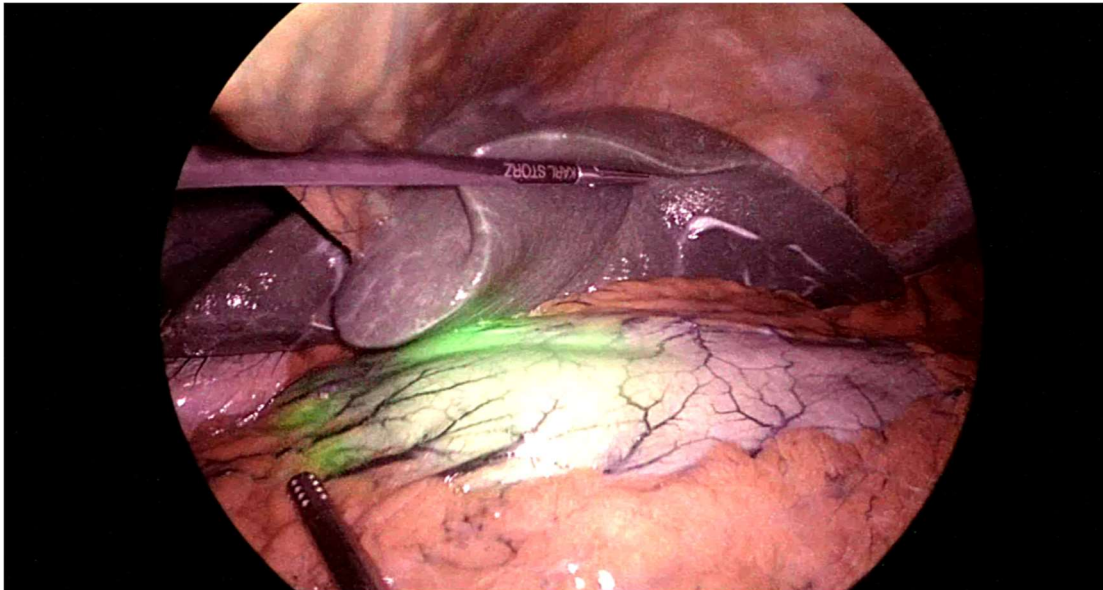
ICG – навигирана лапароскопска гастректомия с D2 лимфна дисекция.

ICG – навигирана лапароскопска гастректомия с D2 лимфна дисекция, извършвахме, като за целта разтворихме 25ml ICG в 20ml стерилна вода. Двадесет и четири часа преди операцията, инжектирахме ендоскопски (ФГС) със специална игла перитуморно (болус от 0,5-1ml във всеки квадрант на тумора), за да се изобрази ясната граница на тумора с нормалната тъкан и да има чиста дифузия към лимфните възли, което да позволи извършването на сентинелна лимфна дисекция. ICG флуоресцентно изобразяване беше извършвано с инфрачервена система и специална камера (PDE-2; Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Япония). Източникът на светлина на флуоресцентната система на ICG е чрез светловод, който излъчва светлина с дължина на вълната 760 nm, а детекторът е свързан с камерата на устройството с лимитиран филтър, използван за филтриране на светлината с дължина на вълните под 820 nm. Флуоресцентните сигнали бяха предадени на цифров видео процесор и се изобразяваха на видеомонитор в реално време.

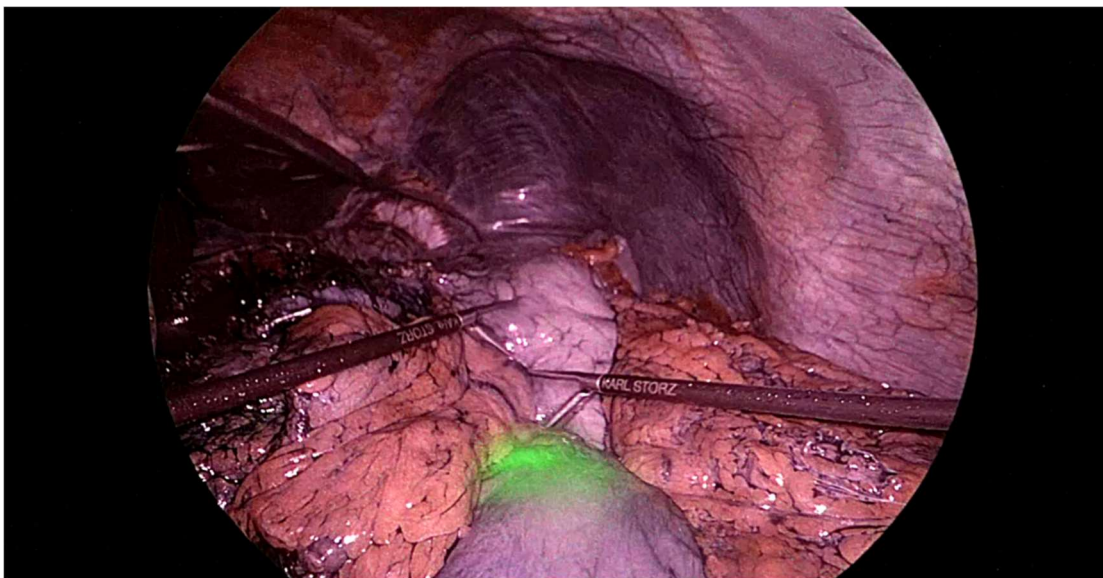
При лапароскопски оглед – 24ч. след маркирането, лимфните възли натрупали ICG се появяват като кръгли петна излъчващи ясна флуоресценция, като те се дефинират като флуоресцентни лимфни възли (FN) (фиг.17). FNs се дисектираха внимателно от обграждащата ги мастна тъкан и от цялостния спесимен.

Туморната тъкан се визуализираше на инфрачервената фаза, като ясно се определяха размера и границите на тумора с околната тъкан (фиг.18). С помощта на флуоресцентните свойства на тумора определяме точно и в съответствие с онкологичните принципи проксималната и

дисталната резекционни линии при един пациент със субтотална гастректомия.



Фигура 17. Лапароскопско изображение на стомашен тумор и перигастрични лимфни възли по време на ICG навигирана лапасоскопска гастректомия.



Фигура 18. Определяне на проксималната резекционна линия в зависимост от местоположението на тумора.

### 6.5.2 Отворен метод (лапаротомия)

Пациента е по гръб със затворени крака. Операционния екип се разполага както следва – оператора и втория асистент от лявата страна на пациента, а първия асистент от дясната. Чрез срединна лапаротомия, послойно, по остър и тъп начин, се достига до перитонеалната кухина.

Започва се с щателна експлорация на коремната кухина за асцит и вторични лезии по черен дроб, париентален и висцерален перитонеум.

Следва мобилизиране на голямото було от колон трансверзум до дясната флексура. Навлиза се в бурса оменталис. Асистента държи с едната ръка стомаха, а с другата колон трансверзум. Прекъсва се дясната гастроепиплоична артерия и вена. Продължава се с мобилизиране на голямото було до началото на лявата флексура, последвано от мобилизиране на антрума по малката кривина. Следва високо съдово лигиране на дясната стомашна артерия на 1 см от а. hepatica communis. Последва прекъсване на малкото було в проксимални граници. Мобилизира се дванадесетопръстника. Работи се на малки стъпки поетапно с помощта на муската поради наличието на малки кръвоносни съдове от а. pancreatoduodenalis докато се визуализира главата на панкреаса. Следва мобилизация на дуоденума по хода на неговата D2 част по външната страна - аваскуларен план, надрязва се серозата. Дистално прекъсваме дуоденума с помощта на линеарен стаплер – зелен пълнител (Covidien AutoSuture TA6048L 4.8mm)(Фиг.19). Продължава се с повдигане на стомаха и дисекция на а. gastrica sinistra, лигира се проксимално със свободна и дистално с прошивна лигатура. Пресича се лявата триъгълна връзка на черния дроб и гастролиеналните съдове, близо до далака (аа.

gastricae breves). Мобилизира се абдоминалната част на хранопровода. Прекъсват се стомашно-диафрагмалните връзки. След това се прекъсват вагусите и хранопровода се изтегля към свободната перитонеална кухина. Вагусните нерви се палпират като ригидни връзки вентрално и дорзално от абдоминалната част на хранопровода, отделят се с дисектор внимателно, за да се избегне ятрогенна лезия на хранопровода и се прекъсват. Лигира се хранопроводния клон на *a. gastrica sinistra*. Стомаха се отстранява en Block с оментума като цял спесимен. Проксималната резекционна линия определяме според локализацията на тумора, и прекъсваме с налагане на меки и твърди клампи с помощта на лезвие.

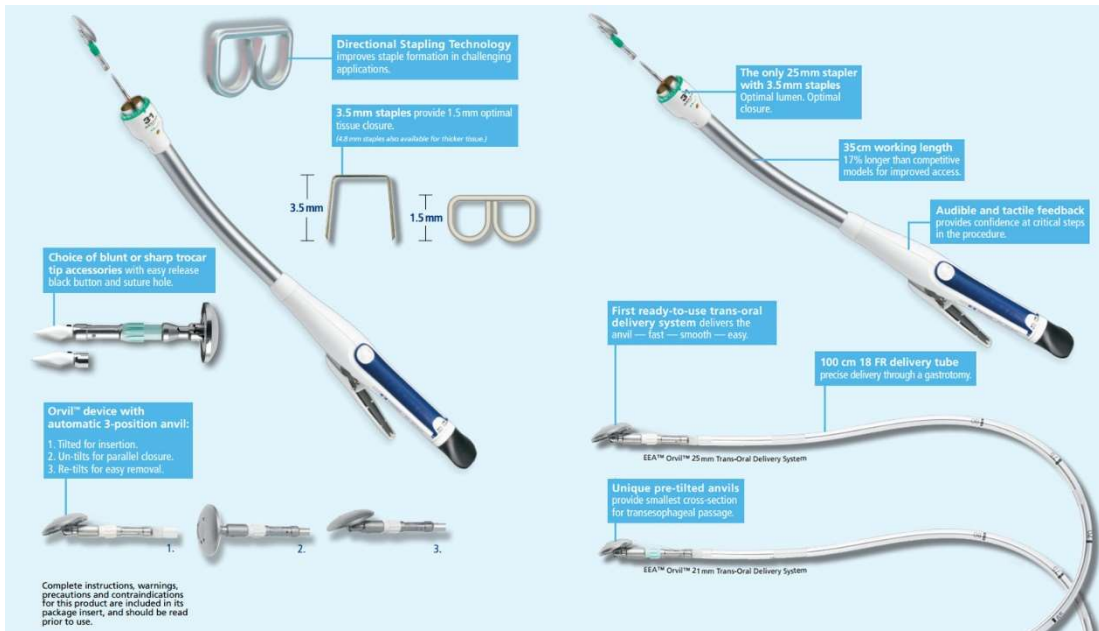
Гастро-йеюналната и езофаго-йеюналната анастомоза извършвахме с помощта на механичен циркулярен стаплер по два типа Roux en Y и Omega с Braun – анастомоза (Covidien EEA21 - DST Series EEA 25mm With 4.88mm Staples) (Фиг.20,21). Ентеро–ентеро анастомозата при двата типа реконструкция извършваме ръчно с помощта на резорбируеми конци Vicryl 2/0 на два етажа с продължителен или прекъснат шев. Коремната кухина затваряме послойно-продължителен шев на перитонеум с резорбируем конец Vicryl 1, фасцията възстановявахме чрез продължителен шев с помощта на монофиламентен конец Loop 0/0.



Фигура 19



Фигура 20



Фигура 21

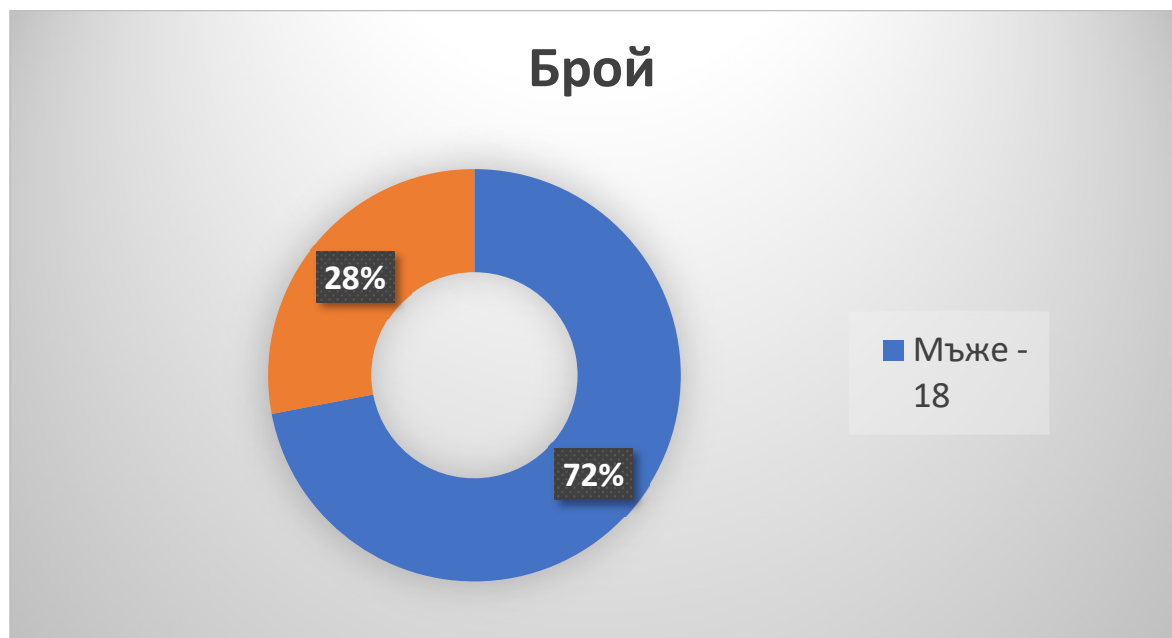
## 7. Резултати

**7.1 ЗАДАЧА 1:** Да се проучат генетични мутации при пациенти с карцином на стомаха и да се определи значението им за резектабилността.

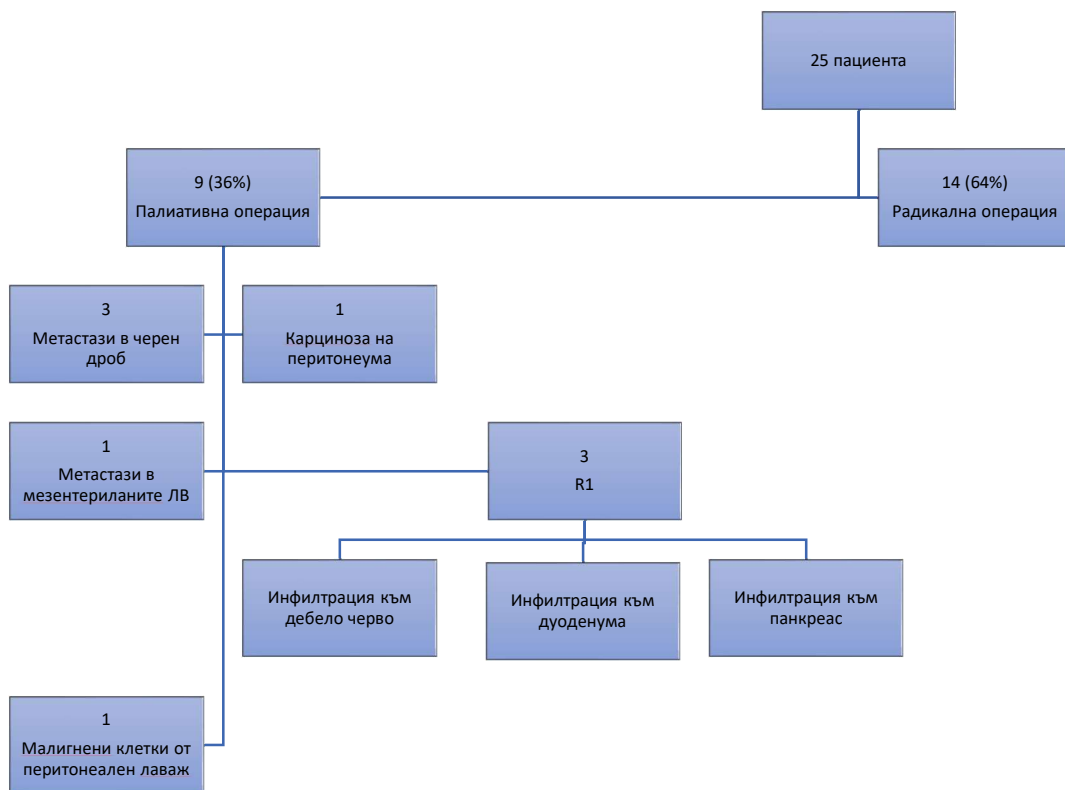
### 7.1.1 Резултати

На генетичен анализ бяха подложени 27 пациента. При един от пациентите се установи наличието на В-клетъчен лимфом на стомаха след изследването на патологоанатомичния препарат, а при друг липсваха пълните данни в попълнените таблици, поради което и двамата бяха изключени от проучването. Характеристиките на пациентите са представени на Таблици 10 и 11, фиг.22,23. Средната възраст на изследваната група беше  $68,2 \pm 8,1$  г (46-79), като 72% (18/25) са мъже, а 28% (7/25) - жени. В зависимост от хистологичния вариант по Lauren 24% (6/25) от аденокарциномите бяха дифузен тип, а 76% (19/25) – интестинален тип. По отношение на диференциацията всички изследвани тумори бяха ниско диференцирани – G3. При 36% (9/25) от пациентите не беше възможно извършването на радикална оперативна интервенция – при трима, поради наличието на далечни метастази в черния дроб, при един, поради наличието на карциноза на перитонеума, при един, поради наличието на метастази в мезентериалните лимфни възли, при един операцията е извършена с оставянето на макроскопски видима туморна тъкан, инфилтрираща дебелото черво, при един, поради положителен за малигнени клетки перитонеален лаваж и двама са с положителна резекционна линия (една от дуоденума и една от съседен орган). При 44% (11/25) от пациентите бяха установени мутации в 8 от изследваните гени: GATA4, GATA6, EGFR, CDK6, KRAS, FGFR1, CCNE1 и ERBB2, като при 16%

(4/25) от пациентите беше установено наличието на повече от една мутация. Най-често срещаната мутация беше дупликация в GATA6 гена (GATA6 dup. ex 3-4-7), която се установи при 20% (5/25) от пациентите. Дупликация в CDK6 гена (CDK dup. ex 3-4-8) се намери при двама пациенти, делеция в GATA4 гена (GATA4 del. ex 1-3-7) - при трима, делеция във FGFR1 гена (FGFR1 del. ex2-5-13) - при двама, дупликация на ERBB2 гена (ERBB2 dup. ex13-22-29) - при двама, дупликация в CCNE1 гена (CCNE1 dup. 3-4-7) – при един. При 66% (6/9) от пациентите с нерезектабилен тумор се установиха мутации, като такива в KRAS и EGFR гените бяха открити само и единствено при тях (Таблица 10 и 11). Една дупликация на KRAS гена (KRAS dup. ex 3-4-6) при 61 годишен мъж с ниско диференциран, тубуларен карцином на стомаха, дифузен тип и метастази в черния дроб. Една дупликация в EGFR гена (EGFR dup ex. 3-4-7) при жена на 69 години с ниско диференциран, пръстеновидноклетъчен карцином на стомаха, дифузен вариант и метастази в мезентериалните лимфни възли.



Фигура 22. Средната възраст на пациентите е 62.5 години (между 46 и 79 години).



Фирура 23. Дизайн на проучването.

pTNM	GATA4	GATA6	EGFR	CDK6	KRAS	FGFR1	CCNE1	ERBB2
T4aN2R0L1M1Pn+					+			
T3N3bR0L1M1Pn+		+						
T4bN2M1L1V1R1Pn+								+
T4NxM1	+					+		
T4aN3bL1V1M0R1								
T4aN3bL1V1M1R0		+						
T4aN3aL1V1R0M0Pn+			+					
T4bN0M+								
T3N1M1p								

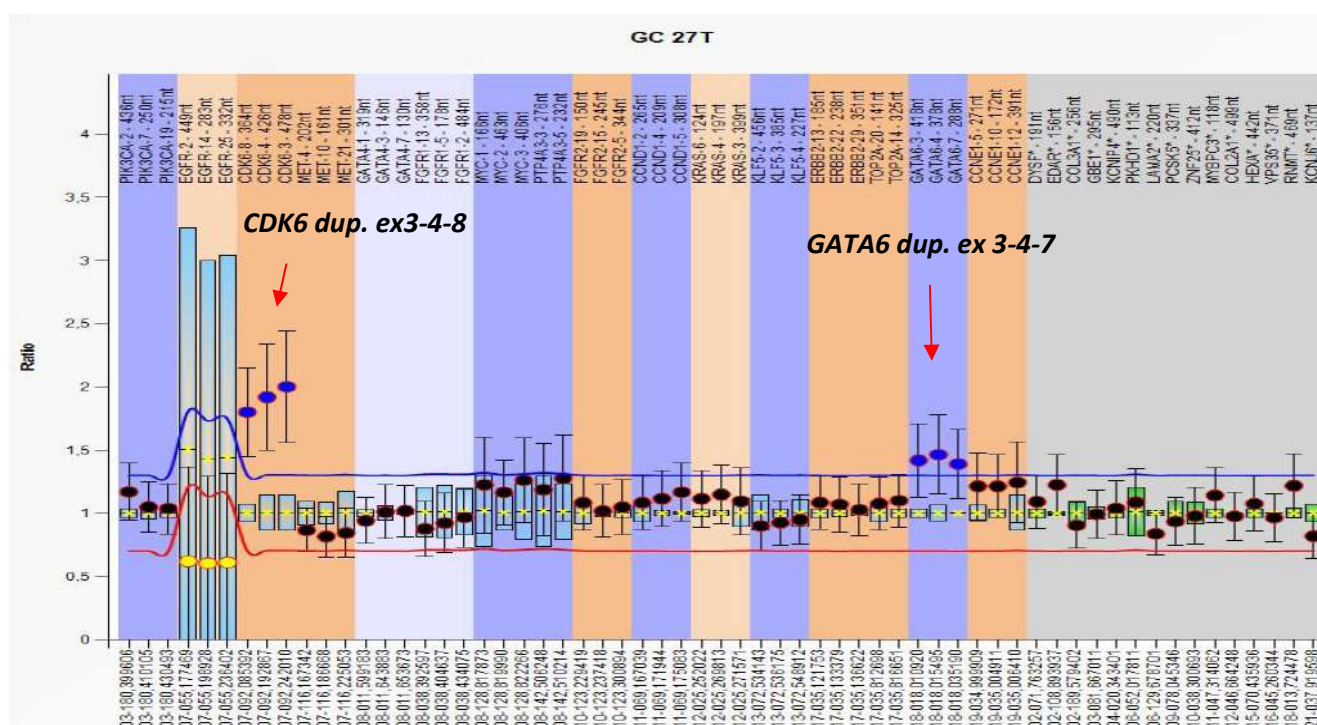
Таблица 10. Генетични мутации в туморната тъкан при пациенти с нерезектабилен карцином на стомаха

pTNM	GATA4	GATA6	EGFR	CDK6	KRAS	FGFR1	CCNE1	ERBB2
T3N1M0R0L0								
T3N0M0R0L0								
T4aN1R0L1V0Pn+				+				
T4aN2M0R0L1Pn+	+						+	+
T4aN1M0R0								
T2N0M0R0								
T3N0M0R0								
T3NxM0R0								
T4aN0M0R0								
T3N1M0R0								
T2N1M0R0	+	+				+		
T2N0M0R0L0								
T1N0M0R0								
T4N1M0R0								
T3N1M0R0L1Pn+		+						
T3N0M0R0		+		+				

Таблица 11. Генетични мутации в туморната тъкан при пациенти с резектабилен карцином на стомаха

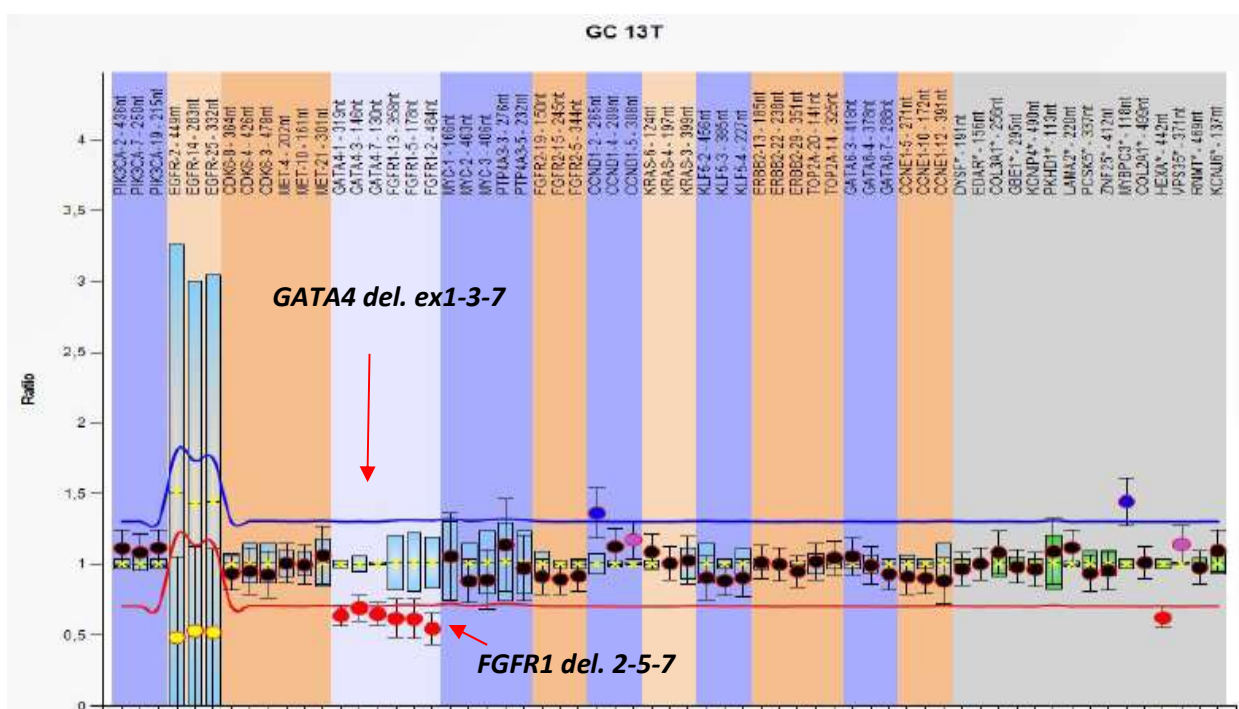
При 37% (10/27) бяха установени аберации в изследваните гени. Геномни пренареждания бяха установени в 8 от изследваните гени: *GATA4*, *GATA6*, *EGFR*, *CDK6*, *KRAS*, *FGFR1*, *CCNE1* и *ERBB2* гените

Анализът показва наличието на дупликация в *CDK6* гена (***CDK6 dup. ex 3-4-8***) при трима пациента: при пациент на 65 годишна възраст с ниско диференциран с аденокарцином на стомаха и двама пациенти без налична клинична информация (**фиг. 20**). При един от пациентите беше установена и дупликация в *GATA6* гена (***GATA6 dup. ex 3-4-7***)(Фиг.24)



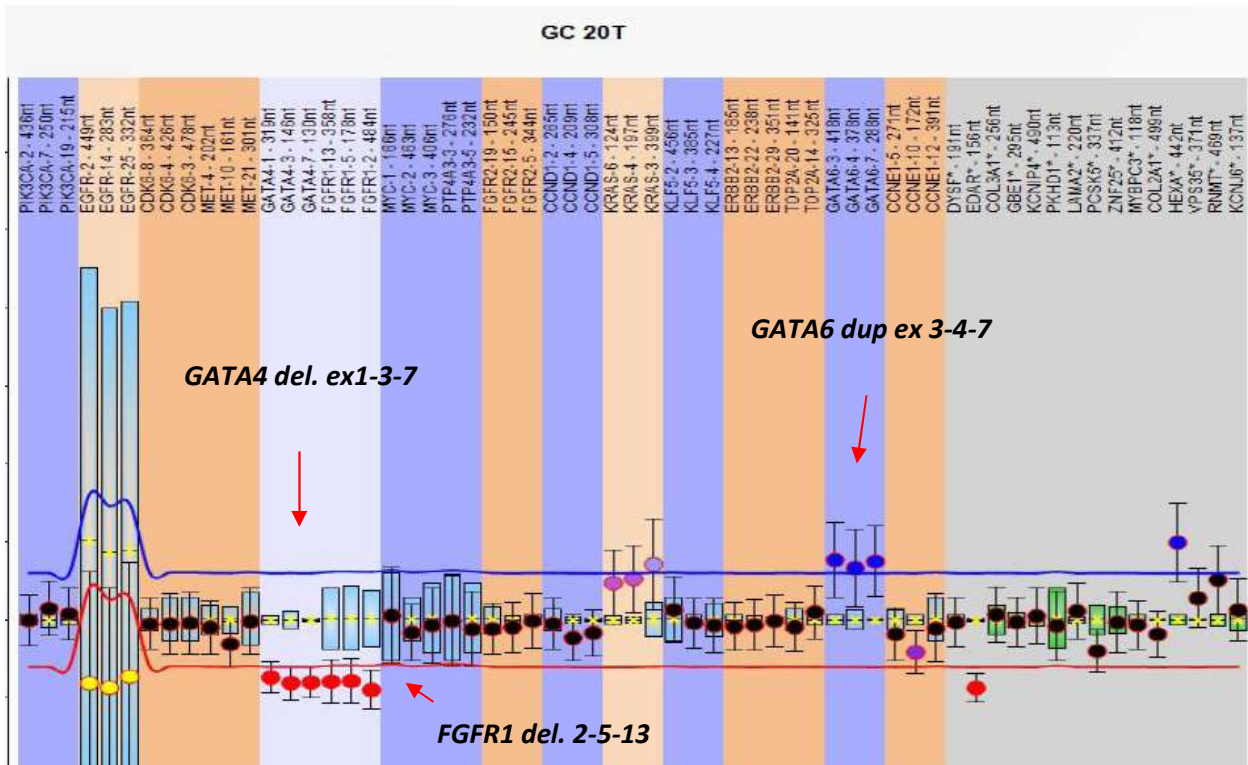
Фигура 24. MLPA анализ на пациент GC027 направен с помощта на Coffalyser.Net софтуер. Със стрелки са показани отчетените дупликации в *CDK6* и *GATA6* гена.

Проведеният MLPA анализ показва наличието на генетични промени в *GATA4* (*GATA4 del. ex1-3-7*) гена при двама пациента с ниско диференциран аденокарцином на стомаха и при един пациент без клинична информация. (фиг. 21). И при тримата пациенти беше установена и делеция във *FGFR1* гена (*FGFR1 del. 2-5-7*). (фиг.25).



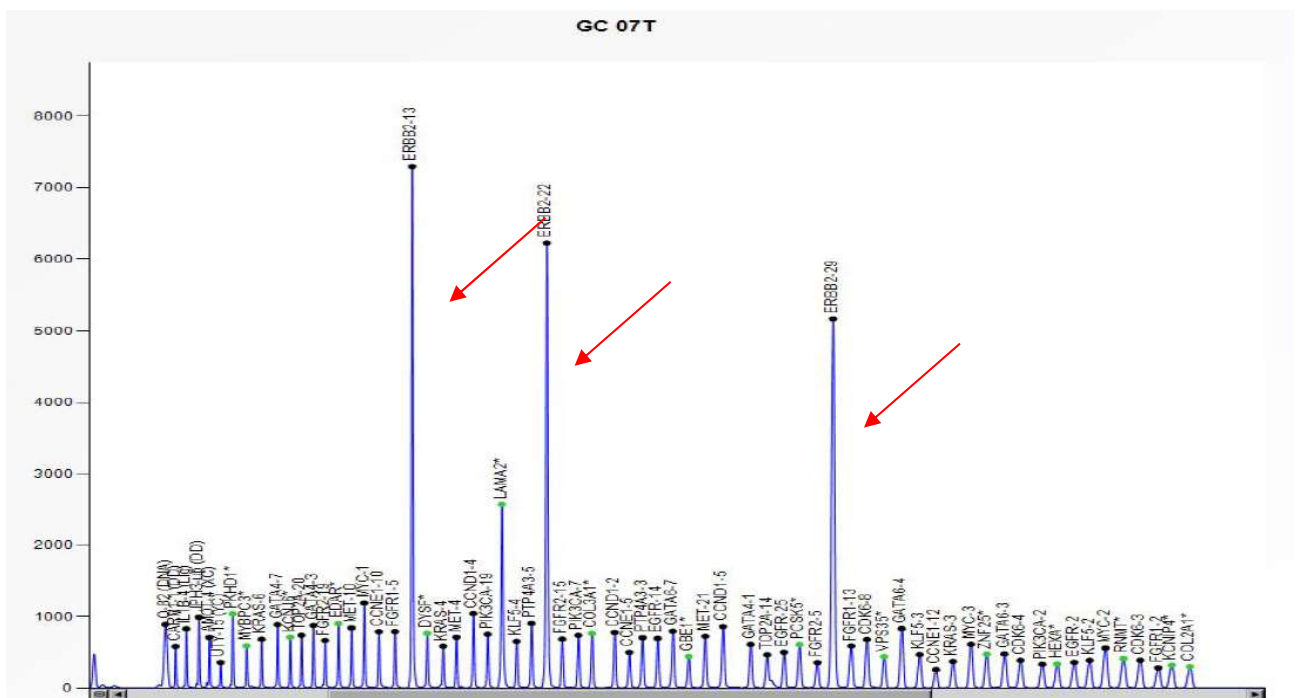
Фигура 25. MLPA анализ на пациент GC013 направен с помощта на Coffalyser.Net софтуер. Анализът показва едновременна делеция в *GATA4* и *FGFR1*.

Изследването показва наличието на генетични промени в *FGFR1* (*FGFR1 del. ex2-5-13*) гена при двама пациенти с ниско диференциран аденокарцином на стомаха (фиг. 26).



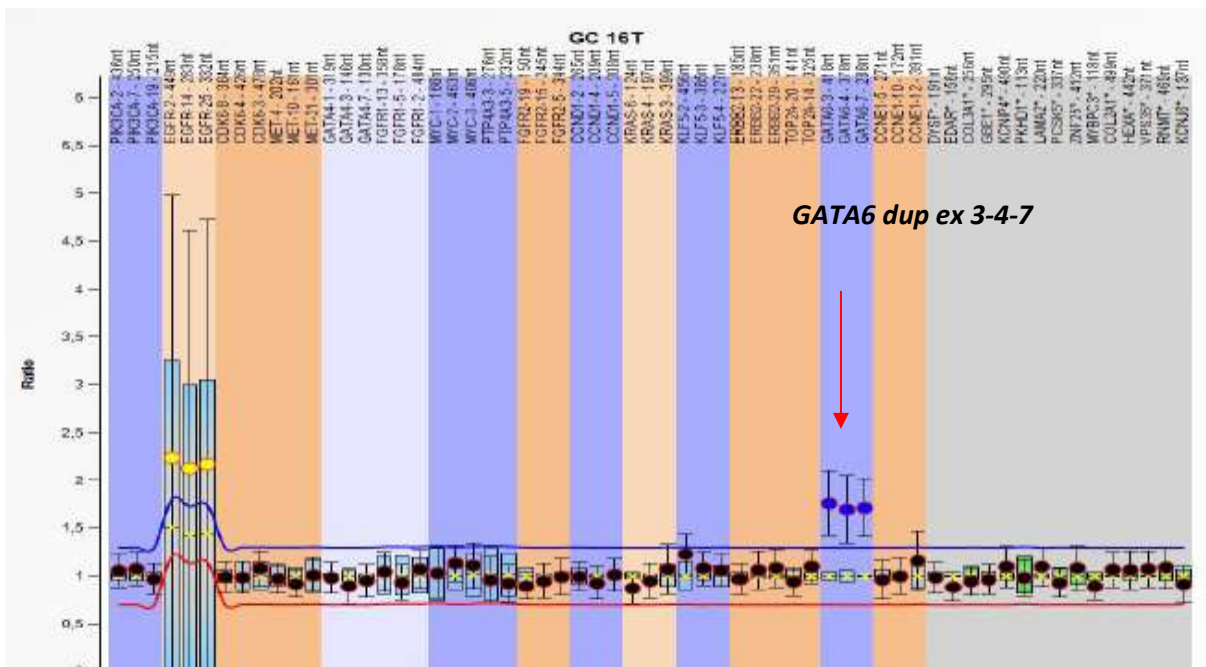
Фигура 26. MLPA анализ на пациент GC020 направен с помощта на Coffalyser.Net софтуер. Анализът показва едновременна делеция в *FGFR1* гена (екзони 2-5-13) и *GATA4* (екзони 1-3-7), както и дупликация на гена *GATA6* (екзони 3-4-7).

При стомашен карцином процента на амплификация и свръхекспресията на ERBB2 обикновено варира между 8% и 18%. В хода на анализа беше установена дупликация на *ERBB2* гена (*ERBB2* dup. ex13-22-29). Промени в *ERBB2* гена бяха установени при двама пациенти без информация за HER две статуса (фиг.27).



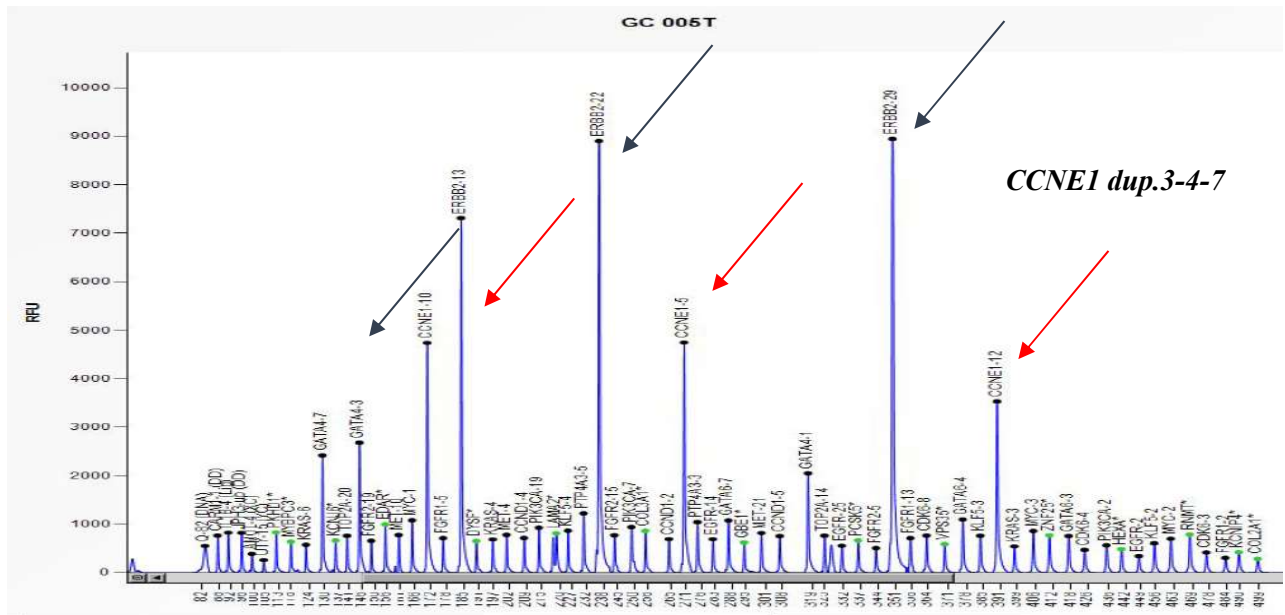
Фигура 27. MLPA анализ на пациент GC007 направен с помощта на Coffalyser.Net софтуер. Със стрелки са показани отчетените делеции в ERBB2 гена (*ERBB2* dup.ex. 13-22-29).

Измежду 39 клетъчни линии от стомашен карцином GATA6 свръхекспресията разкрива болестна подгрупа, която експресира много гени като цяло и вероятно оказва влияние върху регулаторната функция на гена. Изследването показва наличието на дупликация в GATA6 (**GATA6 dup. ex3-4-7**) гена при четирима пациенти–трима с ниско диференциран аденокарцином на стомаха и един с неизвестен хистологичен тип на тумора (фиг.28)



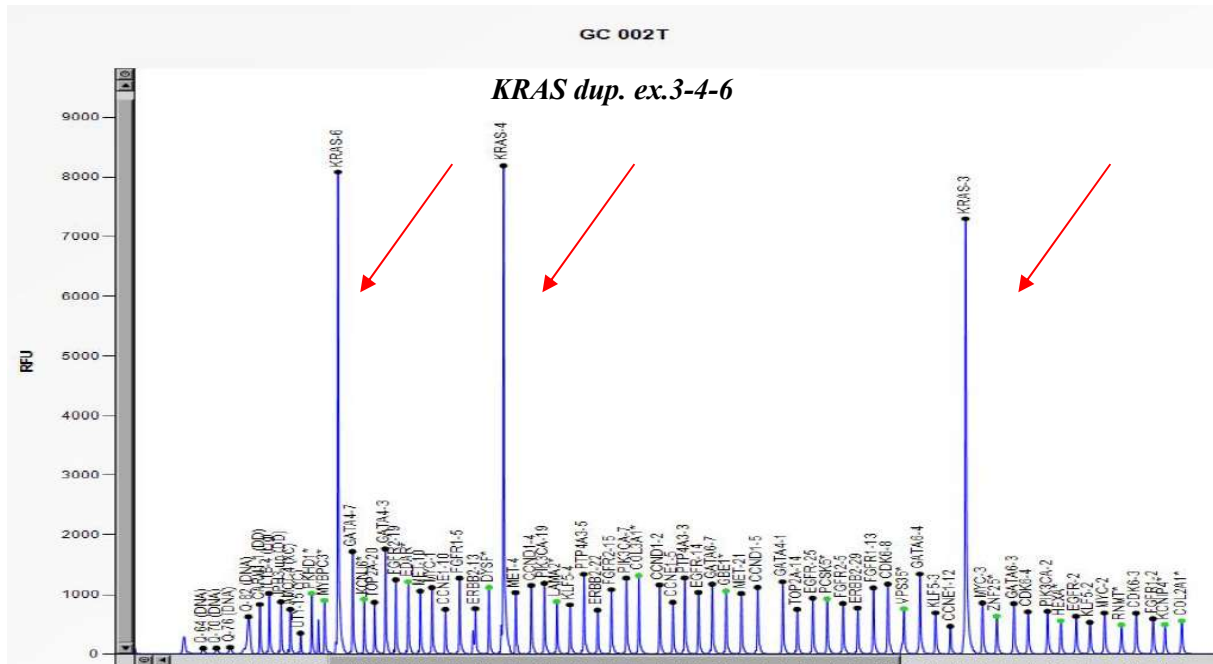
Фигура 28. MLPA анализ на пациент GC016 направен с помощта на Coffalyser.Net софтуер. Резултатът показва наличието на дупликация в GATA6 гена (GATA dup.ex. 3-4-7)

Анализът показва наличието на дупликация в *CCNE1* гена (*CCNE1 dup. 3-4-7*) при един пациент със стомашен карцином, означени на (фиг. 25) в червено. При пациента бяха установени и дупликации в *GATA4* и *ERBB2* гените, означени на (фиг. 29) в синьо.



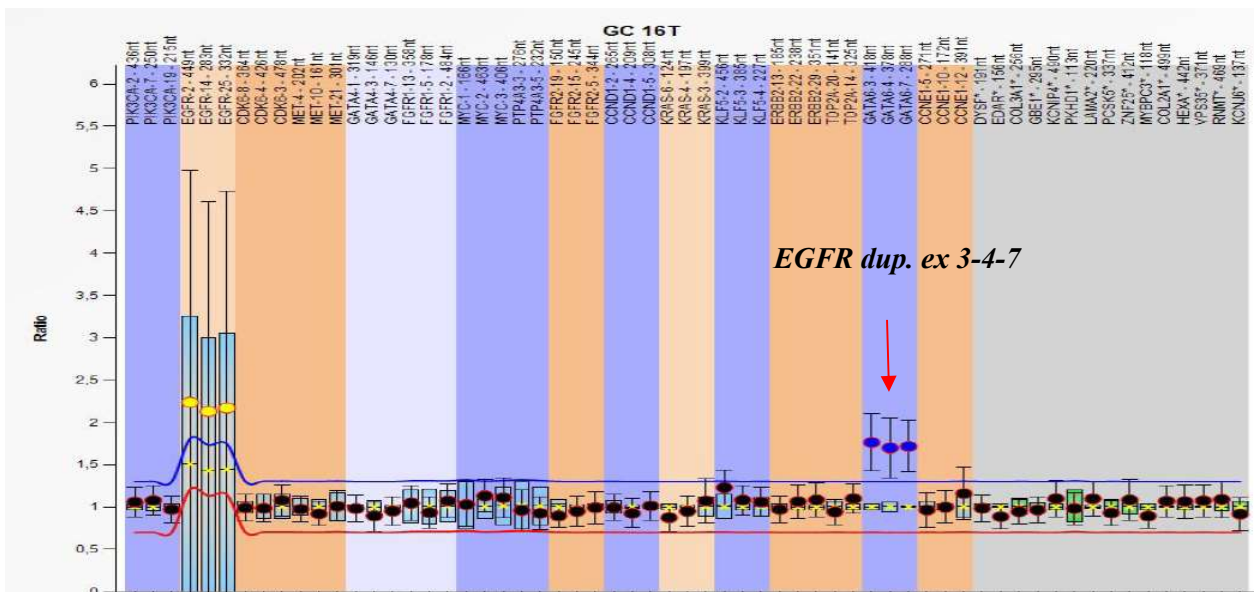
Фигура 29. MLPA анализ на пациент GC016 направен с помощта на Coffalyser.Net софтуер. Отчетената амплификация показва делеция в *CCNE1* гена (*CCNE1 dup.ex. 3-4-7*).

В резултат на проведения MLPA беше установена дупликация на екзони 3, 4 и 7 на *KRAS* гена при 61 годишен пациент с тубуларен ниско диференциран карцином на стомаха (фиг. 30).



Фигура 30. MLPA анализ на пациент GC002 направен с помощта на Coffalyser.Net софтуер. Отчетената амплификация показва дуплокация в *KRAS* гена (*KRAS* dup.ex. 3-4-6).

Промени при активирането на EGFR се появяват избирателно при стомашен карцином от дифузен субтип и са асоциирани с размера на тумора. В нашето изследване само при един пациент на 69 години с ниско диференциран пръстеновидноклетъчен карцином на стомаха беше установена голяма геномна промяна в EGFR гена (*EGFR dup ex. 3-4-7*) (фиг. 31).



Фигура 31. MLPA анализ на пациент GC016 направен с помощта на Coffalyser.Net софтуер. Отчетената амплификация показва дуплокация в EGFR гена (*EGFR dup.ex. 3-4-7*).

### 7.1.2 Обсъждане

В настоящото изследване 9 от проучваните 25 пациенти са с установени с нерезектабилен карцином на стомаха. В този стадий на заболяването възможностите за лечение се свеждат до химиотерапия, съобразена с моментното състояние на пациента или включването му в клинично изпитване на нов вид терапия, а хирургията е само палиативна и се прилага само в случаите на стомашна обструкция или кървене. Все още в нашата страна голям процент от пациентите биват оперирани, най-често с идеята за постигане на циторедукция. Според повечето литературни данни обаче редукционната хирургия и извършването на операция, която не е радикална, са свързани с по-малка продължителност на живота и са лош прогностичен фактор, което налага подобряване на предоперативното стадиране и търсене на предоперативни предиктори за резектабилността на стомашния карцином, за да бъдат избегнати ненужни лапаротомии<sup>369</sup>.

Около 350 (1,6%) от белтък-кодиращите гени в човешкия геном показват рецидивни соматични мутации в туморите и са докладвани доказателства за участието им в канцерогенезата<sup>370</sup>. Някои от тях като семейството на протеин киназите са с ключова роля в клетъчните процеси и прогресията на рака. Един от важните подкласове „движещи“ мутации в туморната тъкан са тези, които отговарят за устойчивостта на рака към терапия. Откриват се в рецидивите на пациенти, които първоначално са отговорили на терапията, но в последствие са развили резистентност. Търсенето и анализирането на подобни мутации беше осъществено и в настоящото изследване чрез MLPA метода, който се използва за откриване на големи делеции, дупликации и геномни пренареждания. Изолираната

ДНК беше висококачествена и с концентрация между 50 и 250 ng, което отговаря на приетите стандарти.

В 18% до 22% от стомашния карцином и карцинома на гастроезофагеалната връзка се установява амплифициране или свръхекспресия на GATA 6 ген, локализиран в хромозома 18<sup>371</sup>, което е в съответствие с нашите резултати, според които най-често срещаната мутация беше дупликация в GATA6 гена и се установи при 20% от случаите.

Протеинът, кодиран от CDK6 гена, е част от семейството на циклин-зависимата протеин киназа (CDK). Групата на CDK са много близки до тези на *Saccharomyces cerevisiae cdc28* и *Schizosaccharomyces pombe cdc2*, и са важни регулатори на прогресията на клетъчния цикъл<sup>372</sup>. Експресията на този ген е повишена при някои типове рак. Нашият анализ показва наличието на дупликация в CDK6 гена при двама пациенти.

GATA4 е транскрипционен фактор, способен да стопира развитието на различни типове човешки неоплазми. Епигенетичната активация в GATA4(GATA5) чрез метилиране на CpG региони е често ранно събитие по време на стомашната карциногенеза и се свързва с инфекция с *H. pylori*. Следователно GATA4/GATA5 могат да играят роля на супресорни гени<sup>373</sup>. Проведеното изследване показва наличието на генетични промени в GATA4 при трима пациенти.

Рецепторът за фибробластен растежен фактор (FGFR1) е част от семейството на рецепторните тирозин кинази, чието активиране чрез амплификация, мутация или транслокация води до пролиферация на туморните клетки и тяхното оцеляване при много карциноми<sup>374</sup>. Ние установяваме делеции в FGFR1 при двама пациенти.

Амплификацията на ERBB2 гена се асоциира с няколко неоплазми като тези на гърдата, стомаха и панкреаса, както и с неврофибробластома. При стомашния карцином процента на амплификацията и свръхекспресията му обикновено варира между 8% и 18%<sup>375</sup>. В хода на нашия анализ резултатите са сходни - беше установена дупликация на ERBB2 гена при двама пациенти – 8%.

Доказано е, че 19q12 генната група, включваща CCNE1 гена е експресирана във висока степен в стомашните тумори, в сравнение с нетуморни стомашни проби<sup>376</sup>. В нашето изследване се установява дупликация в CCNE1 гена само при един пациент със стомашен карцином.

При пациентите с нерезектабилен тумор се установи висок процент на мутации - 66% (6/9), като мутации в KRAS и EGFR гените бяха открити само при тях. Генът KRAS е хомолог на онкогена Kirsten ras от генната фамилията ras при бозайници. Кодира протеин, който е член на малката GTPase суперфамилия. При гена е докладвана аминокиселинна замяна – с.35G>A (p.Gly12Asp) във втори екзон, която е отговорна за активиращата мутация, водеща до променен белтъчен продукт, отговорен за развитието на онкологични заболявания като белодробен аденокарцином, муцинозен аденом, дуктален карцином на панкреаса и колоректален карцином. В резултат на нашия анализ беше установена дупликация на екзони 3, 4 и 6 на KRAS гена.

EGFR генът е локализиран в хромозома 7p11 и кодира рецептор с размери 170 kDa, намиращ се на клетъчната мембрана под формата на инактивни мономери. След като лиганда се свърже с извънклетъчната част на рецептора, той претърпява конформационни промени, димеризира се и

става автофосфолириран в ключов тирозинен участък в извънклетъчния тирозинкиназен домен. Това води до активиране на каскади от реакции, които контролират клетъчното оцеляване, инхибиция на апоптоза и пролиферация. Свръхекспресия на EGFR е описана при много човешки тумори, включително и стомашния карцином . Промени при активирането на EGFR се появяват избирателно при стомашен карцином от дифузен тип и са асоциирани с размера на тумора. В нашето изследване също се установи голяма геномна промяна в EGFR гена също при пациент с дифузен тип, ниско диференциран пръстеновидноклетъчен карцином, който е нерезектабилен и не може да бъде отстранен поради големите си размери и остатъчната макроскопски видима туморна тъкан в съседни органи.

**7.2 ЗАДАЧА 2:** Да се проучи връзката на индивидуалните особености – пол, възраст и индекс на телесна маса на пациентите с карцином на стомаха с резектабилността му.

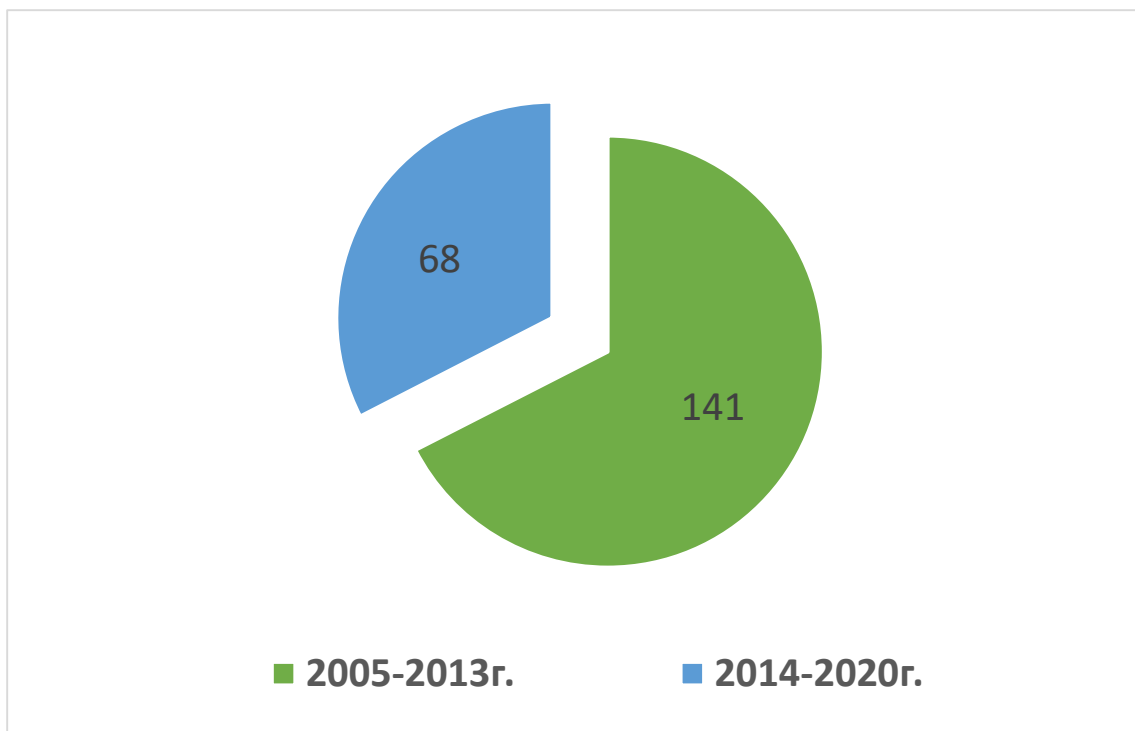
### 7.2.1 Резултати

За периода 2005-2013г. ретроспективно са проследени 141 пациенти, 64 от тях (45,4%) са с нерезектабилен тумор и 77 (54,6%) – с резектабилен. За периода 2014-2020г. са разгледани 68 пациенти, като 40 от пациентите (58,8%) са с нерезектабилен тумор и 28 (41,2%) – с резектабилен. Като няма статитистически значима разлика между пациентите от двата периода по отношение резкетабилността на тумора ( $p=0,069$ )(Табл. 12)(Фиг.32,33).

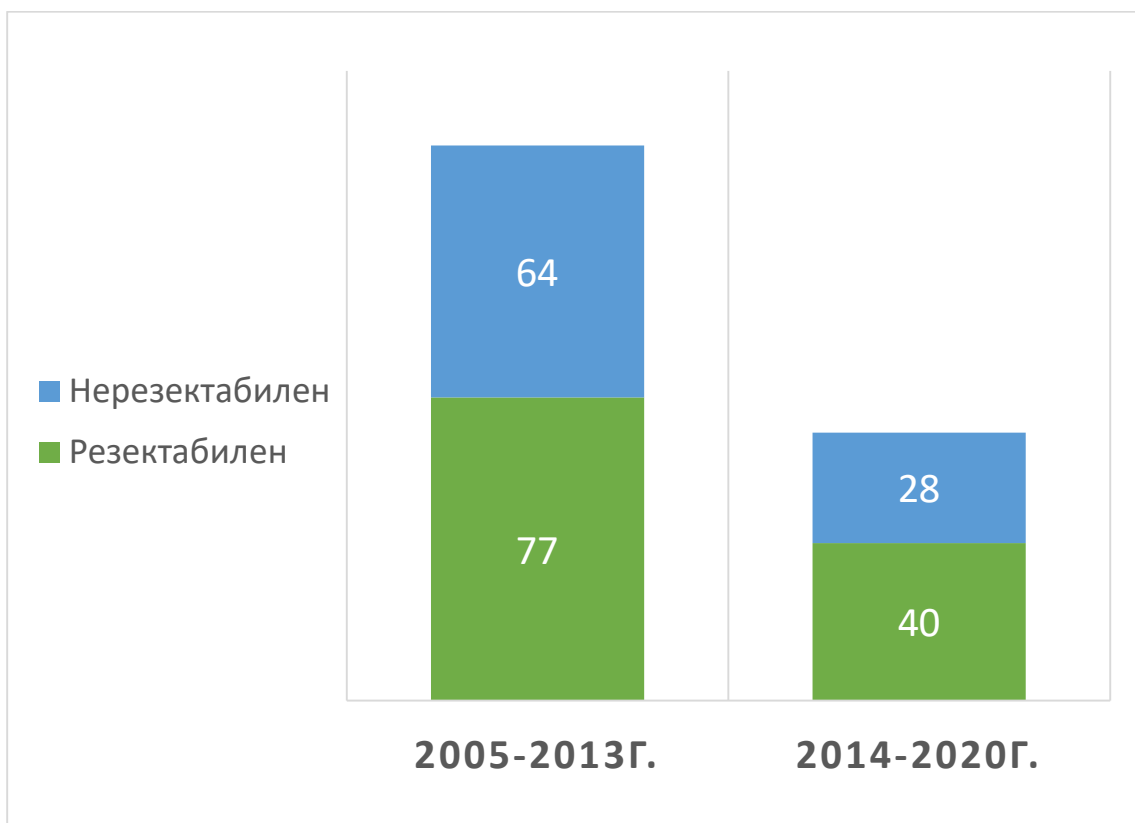
Резектабилен карцином		Група		Общо	p
		Пациенти (2-79)	Пациенти (70-209)		
Не	N	40	64	104	0,069*
	%	58,8%	45,4%	49,8%	
Да	N	28	77	105	
	%	41,2%	54,6%	50,2%	
Общо	N	68	141	209	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Таблица 12. Връзката между радикалността и пациентите за периода от 2005 до 2014 г. и от 2014 до 2020 г.

\* Chi-square test



Фигура 32. Разпределение на броя на пациентите за двата времеви периода.



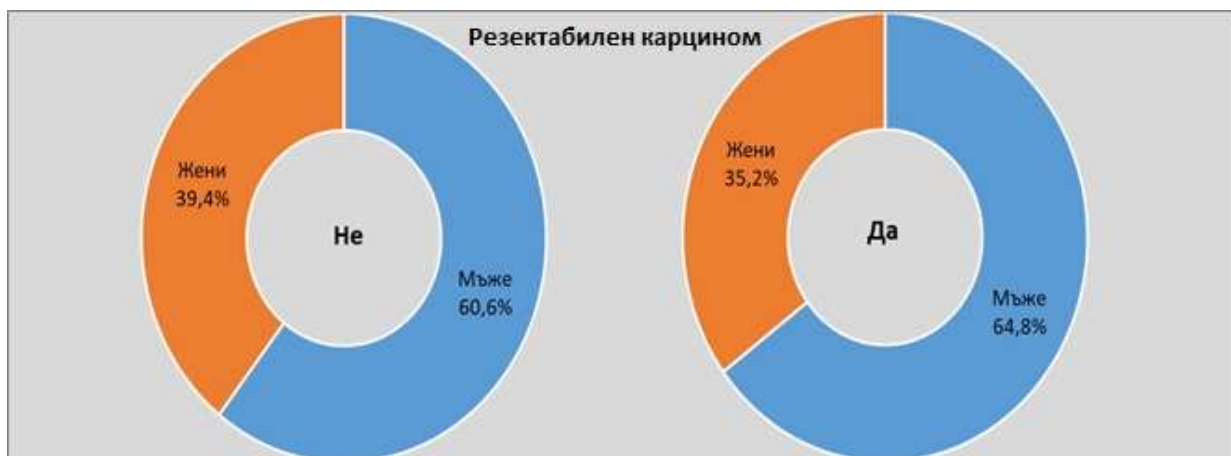
Фигура 33. Съотношение на пациентите по критерия резектабилност в зависимост от периода на изследване.

Общо за целия период 2005-2020 г. 105 пациенти (50,2%) са с резектабилен тумор и 104 (49,8%) – с нерезектабилен. По отношение на пола 131 (62,7%) са мъже и 78 (37,3%) са жени. Не се установява статистически значима разлика между резектабилните и нерезектабилните тумори по отношение на пола ( $p=0,531$ )(Табл.13)(Фиг.34).

Пол		Резектабилен карцином		Общо	p
		Не	Да		
Мъже	N	63	68	131	0,531*
	%	60,6%	64,8%	62,7%	
Жени	N	41	37	78	
	%	39,4%	35,2%	37,3%	
Общо	N	104	105	209	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Таблица 13. Връзка между радикалността на операцията и пола на пациентите с карцином на стомаха.

\* Chi-square test



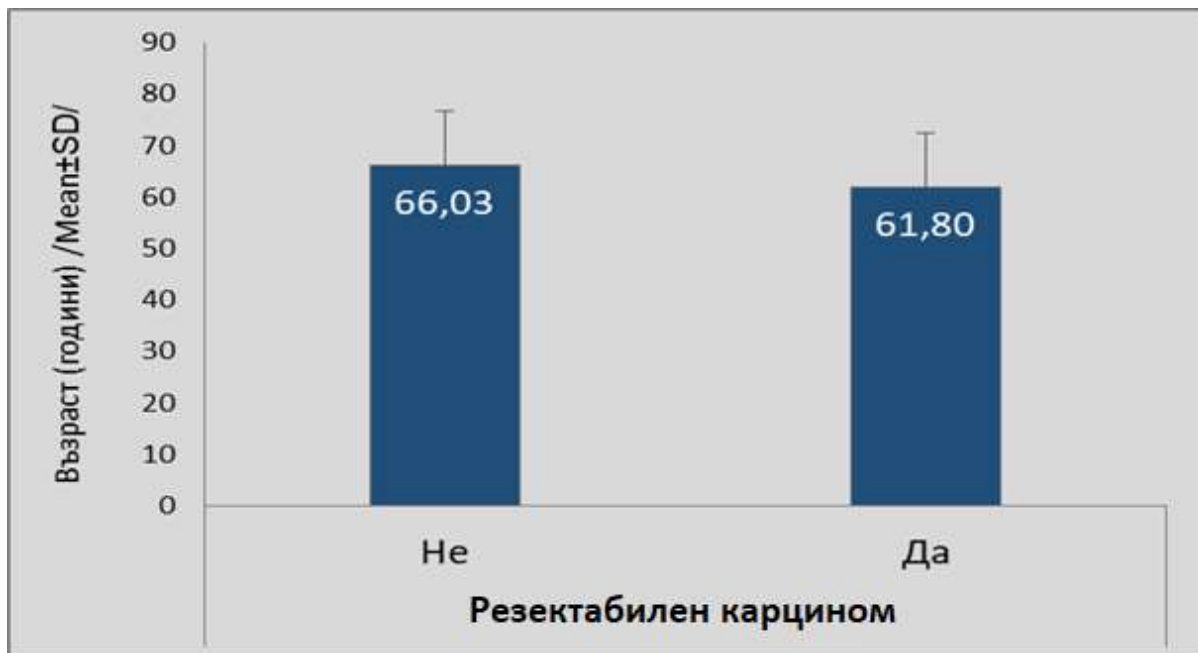
Фигура 34. Разпределение на пациентите с резектабилен и нерезектабилен карцином на стомаха по пол.

Средната възраст на всички пациенти с диагностициран карцином на стомаха за периода 2005-2020 г. е 63,9г., което е в съответствие с резултатите докладвани и от други автори. Средната възраст на пациентите с резектабилен карцином на стомаха е  $61,8 \pm 10,4$ г., а на нерезектабилните –  $66,03 \pm 10,5$ г., като разликата е статистически значима ( $p=0,004$ )(Табл.14)(Фиг.35).

Показател	Резектабилен карцином	N	Mean	Median	SD	Min	Max	t	df	p
Възраст г	Не	104	66,03	67,50	10,54	37,00	86,00	2,91	207	0,004*
	Да	105	61,80	63,00	10,48	33,00	83,00			

Таблица 14. Връзка между възрастта на пациентите с карцином на стомаха и резектабилността на тумора.

\* Independent Samples t-test



Фигура 35. Средната възраст на пациенте с резектабилен карцином на стомаха сравнена с тази на пациентите с нерезектабилен карцином на стомаха.

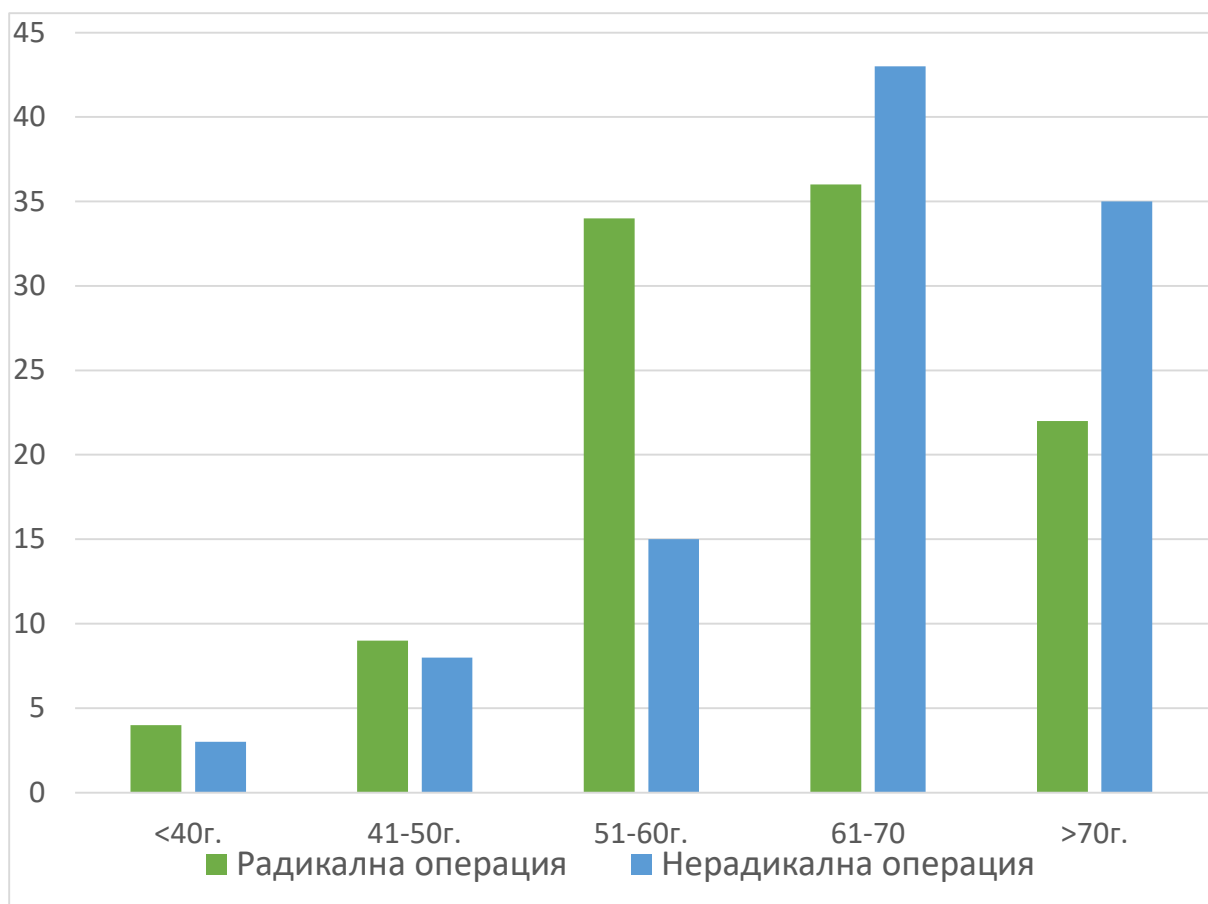
Статистически значимата разлика по отношение на възрастта между пациентите с резектабилен карцином на стомаха и тези с нерезектабилен е за сметка на възрастовите групи между 51-60г. и при > 70г. (p=0,025)(Табл.15)(Фиг 36).

Възрастова група		Резектабилен карцином		Общо	p
		Не	Да		
≤ 40	N	3 <sub>a</sub>	4 <sub>a</sub>	7	0,025*
	%	2,9%	3,8%	3,3%	
41-50	N	8 <sub>a</sub>	9 <sub>a</sub>	17	
	%	7,7%	8,6%	8,1%	
51-60	N	15 <sub>a</sub>	34 <sub>b</sub>	49	
	%	14,4%	32,4%	23,4%	
61-70	N	43 <sub>a</sub>	36 <sub>a</sub>	79	
	%	41,3%	34,3%	37,8%	
>70	N	35 <sub>a</sub>	22 <sub>b</sub>	57	
	%	33,7%	21,0%	27,3%	
Общо	N	104	105	209	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Таблица 15. Разпределение на пациентите с карцином на стомаха по възрастови групи и връзката им с резектабилността на тумора.

\* Chi-Square Tests

Забележка: Различните индексни букви означават, че пропорциите по колоните се различават значимо една от друга при ниво 0,05



Фигура 36. Статистически значимата разлика по отношение на възрастта между пациентите с резектабилен карцином на стомаха и тези с нерезектабилен е за сметка на възрастовите групи между 51-60 г. и при > 70 г ( $p=0,025^*$ ).

Направени са антропометрични измервания на ръста и теглото при 57 пациенти с карцином на стомаха, като при тях е изчислен и ИТМ. Средният ИТМ е 24,7. 25 от пациентите с карцином на стомаха (43,9%) са с наднормено тегло, но не се установява статистически значима зависимост между ИТМ и резектабилността на тумора ( $p=0,256$ )(Табл.16). Няма статистически значима разлика и между наличието на наднормено тегло и резектабилността на тумора ( $p=0,426$ ) (Табл.17) (Фиг.37)(Фиг.38).

Показател	Резектабилен карцином	N	Mean	Median	SD	Min	Max	t	df	p
BMI kg/m <sup>2</sup>	Не	33	24,18	23,00	4,26	15,00	33,00	1,15	55	0,256*
	Да	24	25,33	25,50	2,85	20,00	32,00			

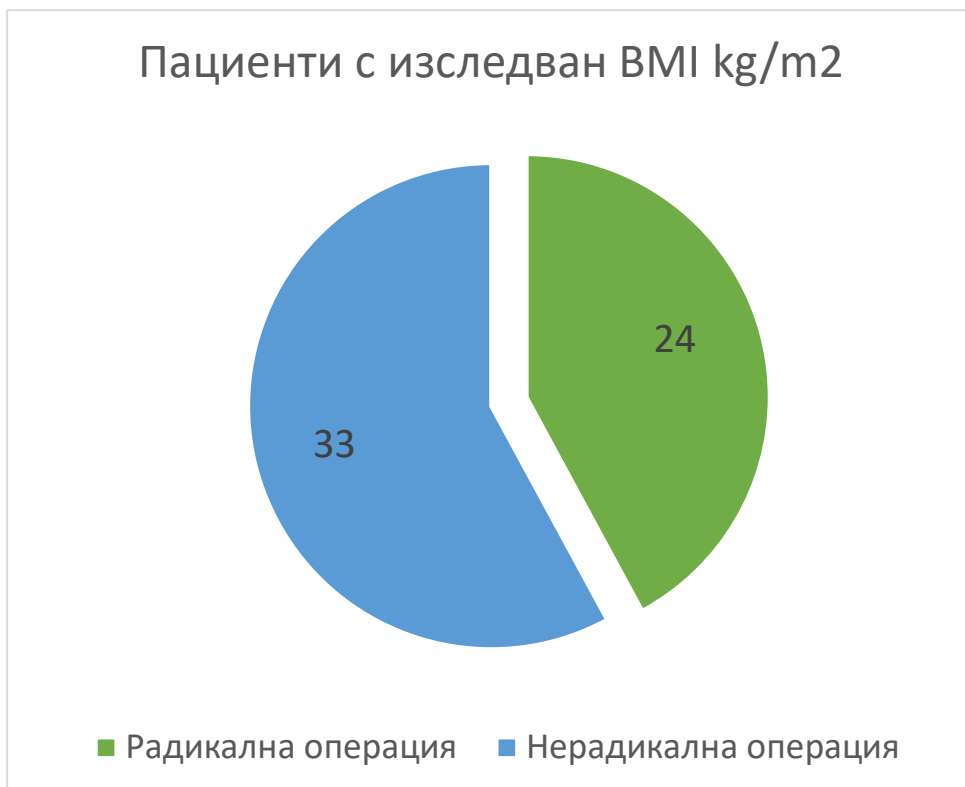
Таблица 16. Връзка между ИТМ при пациенти с карцином на стомаха и резектабилността на тумора.

\*Independent Samples t-test

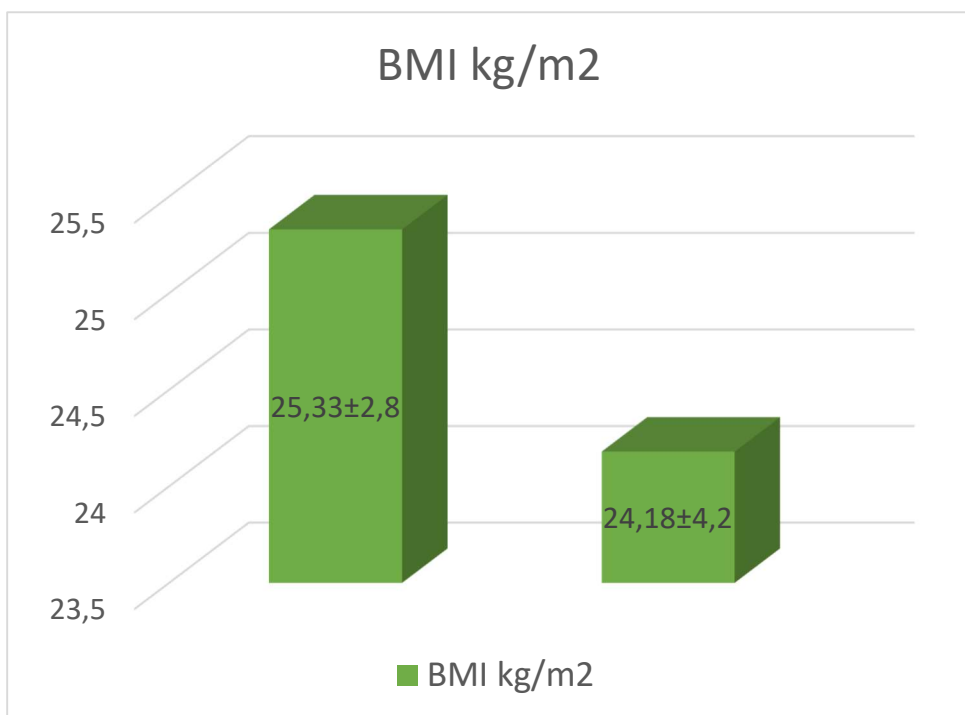
BMI		Резектабилен карцином		Общо	p
		Не	Да		
<=25 kg/m <sup>2</sup>	N	20	12	32	0,426*
	%	60,6%	50,0%	56,1%	
> 25 kg/m <sup>2</sup>	N	13	12	25	
	%	39,4%	50,0%	43,9%	
Общо	N	33	24	57	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Таблица 17. Връзка между наличието на наднормено тегло при пациентите с карцином на стомаха и резектабилността на тумора.

\* Chi-Square Tests



Фигура 37. Съотношение на броя на изследваните пациенти с BMI спрямо радиакалността



Фигура 38. Средния BMI спрямо резектабилността

### 7.2.2 Обсъждане

В настоящето изследване 49,8% от пациентите са с нерезектабилен тумор, което отново потвърждава големия процент на иноперабилни случаи на карцином на стомаха в България. Тези резултати са съпоставими и с процента на нерезектабилните тумори сред пациентите в Европа – 40%<sup>377</sup>, но са много по-лоши в сравнение с тези в Япония – 10%<sup>378</sup>. Освен това, тенденцията за късната диагностика се задържа в годините - за периода 2005-2013 г. 64 от пациентите (45,4%) на Клиниката по хирургия на УМБАЛ “Александровска” - София са с нерезектабилен тумор, а за периода 2014-2020 г. 40 от пациентите (58,8%) в Клиниката са с нерезектабилен тумор. Въпреки, че тенденцията не е статистически значима ( $p=0,069$ ), има влошаване в показателите, а би следвало да е обратното, предвид развитието на скрининговите програми и напредъка в диагностиката. 67,2% от нашите пациенти с карцином на стомаха са от мъжки пол, което потвърждава данните от литературата, че мъжете са с по - голям риск от развитие на карцином на стомаха. Не се установява обаче статистически значима разлика между резектабилните и нерезектабилните тумори по отношение на пола ( $p=0,531$ ), което означава, че според нашето проучване той не може да се приеме за предиктор на резектабилността.

Средната възраст на пациенти с диагностициран карцином на стомаха е 63,9г., която е по - ниска в сравнение с предишните години и показва тенденция за спадане на възрастта на пациентите с карцином на стомаха, което се потвърждава и от други автори<sup>379</sup>. Средната възраст на пациентите с резектабилен карцином на стомаха в нашето проучване е 61,8г., а на нерезектабилните – 66,3г., като разликата е статистически значима ( $p=0,004$ ). Нещо повече, карциномите на стомаха при пациентите

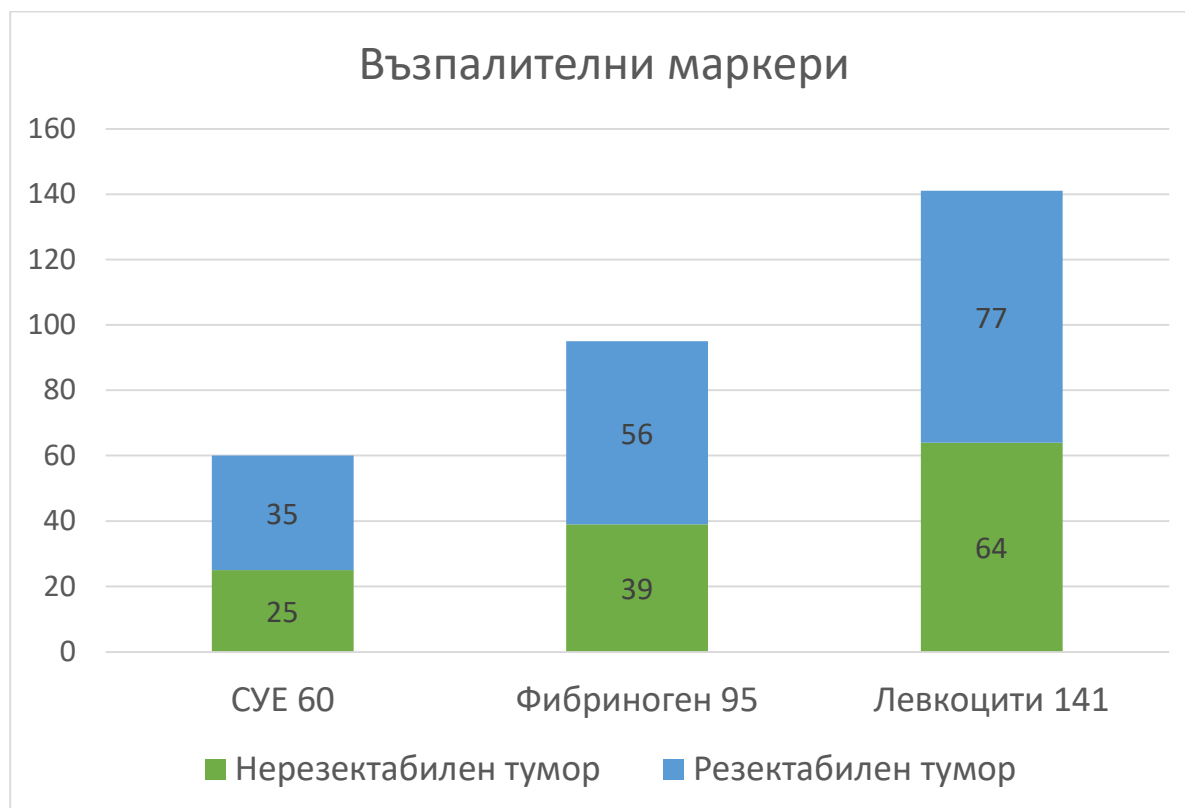
между 51 и 60г. са със статистически значима по-голяма вероятност да бъдат резектаблни, а тези при пациентите над 70г. – със статистически значима по - голяма вероятност да бъдат нерезектабилни.

Затлъстяването е рисков фактор за развитие на злокачествени заболявания с различна локализация<sup>380</sup>. В нашето изследване 43,9% от пациентите с карцином на стомаха са с наднормено тегло. Въпреки, че според редица автори затлъстяването е свързано със затруднения при извършването на операцията, ние не регистрираме статистически значима разлика между резектабилните и нерезектабилните тумори по отношение на ИТМ и наднорменото тегло ( $p=0,256$  и  $p=0,426$  съответно).

**7.3 ЗАДАЧА 3:** Да се установи има ли връзка между стойностите на някои основни маркери на възпалението – левкоцити, фибриноген и СУЕ с резектабилността на карцинома на стомаха.

### 7.3.1 Резултати

От всички 141 ретроспективно проследени пациенти - 64 (45,4%) са с нерезектабилен тумор и 77 (54,6%) – с резектабилен. Левкоцити са изследвани при всички пациенти, СУЕ при 60 пациенти (35 са с резектабилен тумор, 25 са с нерезектабилен), а фибриноген при 95 (56 с резектабилен тумор, 39 нерезектабилен) от тях (Фиг.39). Средната стойност на левкоцитите при пациентите с резектабилен тумор е  $8,13 \times 10^9 \pm 2,68$ , а средната стойност на левкоцитите при пациентите с нерезектабилен тумор е  $8,69 \times 10^9 \pm 3,15$ , като разликата не е статистически значима ( $p=0,370$ )(Табл.18)



Фигура 39. Изследвани възпалителни маркери спрямо резектабилността

Показател	Резектабилен карцином	N	Mean	Median	SD	Min	Max	p
левкоцити x 10 <sup>9</sup> /л	Не	64	8,69	8,00	3,15	3,20	19,20	0,370*
	Да	77	8,13	7,40	2,68	2,49	16,20	

Таблица 18. Връзката между резектабилността на тумора и левкоцитите.

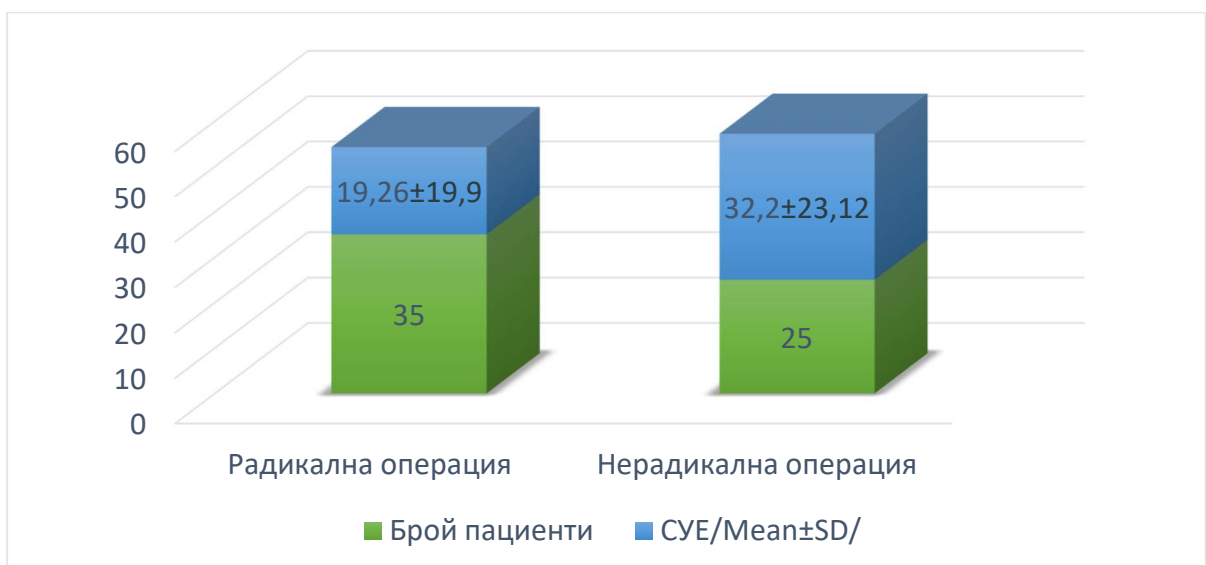
\* Mann-Whitney test

Средната стойност на пациентите със СУЕ при пациентите с нерезектабилен карцином е 32,2mm/h±23,12, а при тези с резектабилен тумор е 19,262mm/h±12,9, като разликата е статистически значима (p=0,008)(Табл.19)(Фиг.40).

Показател	Резектабилен карцином	N	Mean	Median	SD	Min	Max	t	df	p
СУЕ mm/h	Не	25	32,20	24,00	23,12	5,00	110,00	2,76	58	0,008*
	Да	35	19,26	16,00	12,99	2,00	58,00			

Таблица 19. Връзката между резектабилността на тумора и СУЕ.

\* Independent Samples t-test



Фигура 40. СУЕ спрямо резектабилността на тумора (p=0,008)

Средната стойност на фибриногена при пациентите с нерезектабилен тумор е 4,79g/l  $\pm$ 1,44, а при пациентите с резектабилен тумор 4,11 g/l  $\pm$ 1,18, като разликата е статистически значима( $p=0,013$ )(Табл.20) (Фиг.41).

Показател	Резектабилен карцином	N	Mean	Median	SD	Min	Max	t	df	p
фибриноген g/l	Не	39	4,79	4,70	1,44	1,87	8,12	2,54	93	0,013*
	Да	56	4,11	4,13	1,18	1,90	7,31			

Таблица 20. Връзката между резектабилността на тумора и фибриногена.

\* Independent Samples t-test



Фигура 41. Фибриноген спрямо резектабилността на тумора ( $p=0,013$ )

### 7.3.2 Обсъждане

В последните години широко се изследва връзката между възпалението, вродения имунитет и рака. Много проучвания доказват че възпалителния синдром е свързан с по – лоша прогноза и по - висока смъртност при пациентите с карцином. Системния възпалителен отговор играе основна роля в карциногенезата и разпространението на тумора. Редица маркери на възпалението са изследвани като прогностични фактори като съотношението между неутрифилите и лимфоцитите, съотношението между тромбоцитите и лимфоцитите. В настоящия дисертационен труд е изследвана връзката между броя на левкоцитите и резектабилността при пациентите с карцином на стомаха, като не се установява статистически значима разлика.

Други автори изследват значението между някои острофазови белтъци, като албумин, С – реактивен протеин, прокалцитонин за предиктивни фактори при пациенти с карцином на стомаха. С – реактивния протеин се образува от хепатоцитите и е маркер на възпалението предизвикана от инфекция или травма. Редица автори установяват високи нива на С- реактивния протеин при различни видове карцином като колоректален, белодробен и стомашен. Други автори доказват връзката на други маркери на възпалението като интерлефкин 6 и със стадия на заболяването, степента на инвазия на тумора (Т) и прогнозата при пациентите с различен вид рак включително при пациентите с карцином на стомаха<sup>381</sup>.

В нашето проучване изследваме стойностите на СУЕ и фибриноген при пациенти с карцином на стомаха. СУЕ или скорост на утаяване на еритроцитите е показател, който ни дава информация за скоростта, с която

кръвта се разделя на плазма и еритроцити. Когато при кръвни изследвания се установи нормална стойност на СУЕ, това означава, че в организма не протича възпалителна реакция. Затова СУЕ се използва като един от критериите при поставяне на диагнози. Чрез СУЕ могат да се установят и редица сериозни заболявания, включително автоимунни и ракови. Fieldman et al. съобщават че СУЕ и CRP имат статистическа значима връзка с развитието на стомашен рак<sup>382</sup>. Установено е също, че високото СУЕ се наблюдава при различни видове рак с по - лоша прогноза, включително Ходжкинов лимфом стомашен карцином, бъбречноклетъчен карцином, рак на гърдата и MALT лимфом<sup>383,384</sup>. Описано е че повишеното ниво на СУЕ съответства с повишения туморен маркер СЕА. Доказано е, че при напреднал локорегионален туморен процес, СУЕ се завишава, което се обяснява с перитуморното възпаление.

Фибриногенът (фактор I) е важен белтък от каскадата на кръвосъсирването. Намира се разтворен в плазмата и тромбоцитните гранули. В последната фаза на кръвосъсирването фибриногенът се трансформира в неразтворимата си форма – фибрин и участва в оформянето на кръвния съсирек.

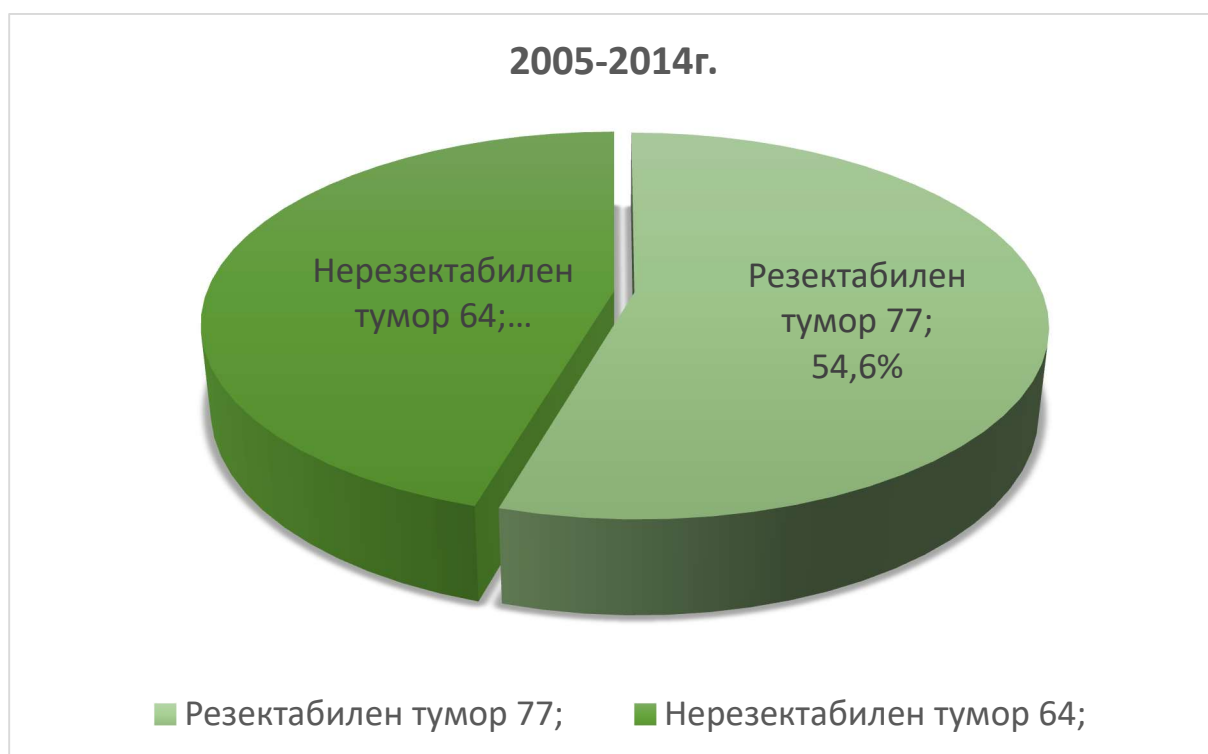
Произвежда се от черния дроб в количество 1.7 – 5 g на ден, а полуживотът му в плазмата е 3-5 дни. Извън ролята му в каскадата на кръвосъсирването, фибриногенът е част от групата на острофазовите белтъци, чиито нива се повишават при наличие на системен отговор на организма към тежка увреда (травма, обширно изгаряне, инфекция и др.). Preston et al. докладват за повишен серумен фибриноген при пациенти с аденокарцином на панкреаса<sup>385</sup>. Освен това Sheng et al. демонстрират, че

високите плазмени нива на фибриноген определят по-лоши патологични характеристики и положителна лимфоваскуларна инвазия<sup>386</sup>. Lee et al. съобщават, че размерът на тумора, дълбочината на инвазия, стадия на тумора, метастазите в лимфните възли и лошата преживяемост на пациента са в положителна корелация с предоперативните нива на плазмен фибриноген при напреднал стомашен карцином<sup>387,388</sup>. В настоящия дисертационен труд установяваме, че при нерезектабилните тумори на стомаха те имат по - високи стойности. Това предполага връзка на възпалителния синдром при пациентите с карцином на стомаха и резектабилността му.

**7.4 ЗАДАЧА 4:** Да се установи има ли връзка между стойностите на туморните маркери СЕА и СА 72-4 с резектабилността на карцинома на стомаха.

#### 7.4.1 Резултати

Шестдесет и четири от пациентите в ретроспективното проучване (45,4%) са с нерезектабилен тумор и 77 (54,6%) – с резектабилен. От тях туморния маркер СЕА е изследван - при 55 (39,01%) от тях, а СА 72-4 при 50 (35,46 %) пациенти (Фиг.42,43).



Фигура 42. Броя на изследваните пациенти с изследвани туморни маркери и резектабилността



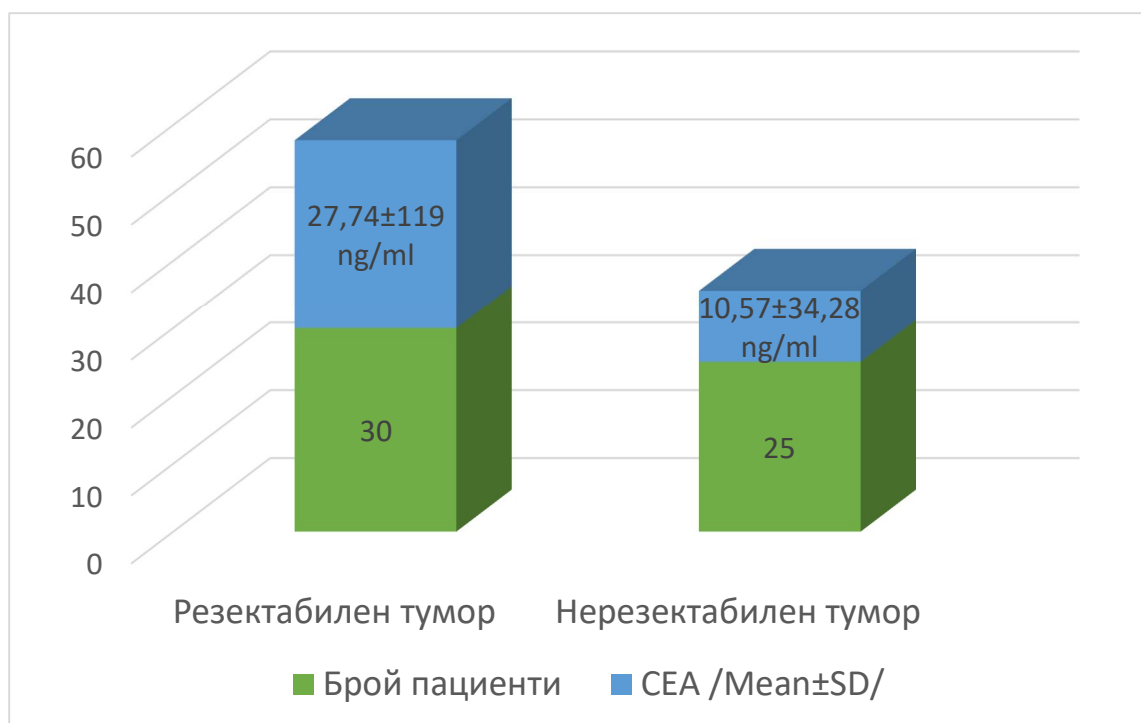
Фигура 43. Процентно съотношение на изследваните пациенти

Средната стойност на туморния маркер CEA при изследваните пациенти с диагностициран карцином на стомаха е 19,9 ng/ml. Средната стойност при пациентите с резектабилен карцином на стомаха е 27,74 ng/ml, а на нерезектабилните – 10,57 ng/ml, като разликата е статистически значима ( $p=0,039$ ) (Табл.21)(Фиг.44).

Показател	Резектабилен карцином	N	Mean	Median	SD	Min	Max	p
CEA ngr/ml	Не	25	10,57	1,50	34,28	0,20	160,00	0,039*
	Да	30	27,74	2,12	119,08	0,20	651,00	

Таблица 21. Връзката между туморния маркер CEA и резектабилността на стомашния карцином.

\* Mann-Whitney tes



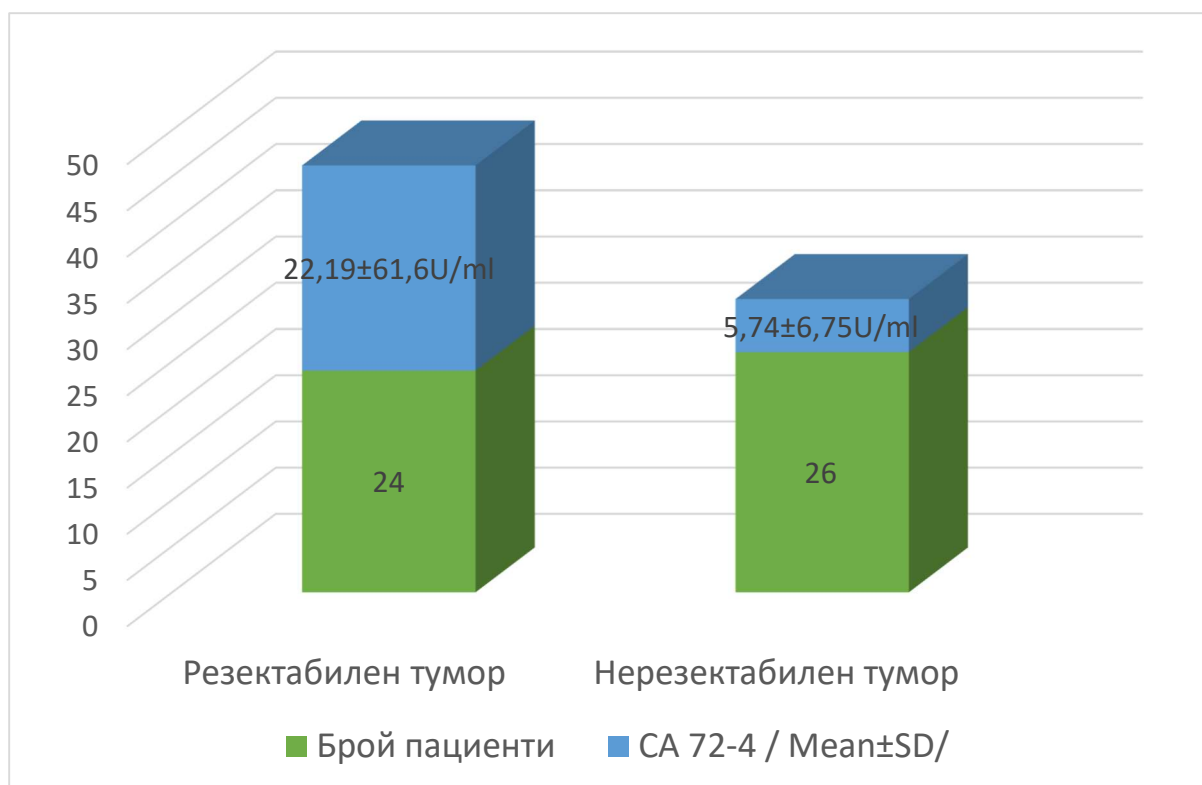
Фигура 44. Средната стойност на CEA при изследваните пациенти и връзката му с резектабилността( $p=0,039$ )

При пациентите изследвани за туморния маркер CA72-4 - 24 от тях са с нерезектабилен тумор, а 26 с резектабилен. Средната стойност на туморния маркер CA72-4 при изследваните пациенти с диагностициран карцином на стомаха е 14,2 U/ml. Средната стойност при пациентите с резектабилен карцином на стомаха е 22,19 U/ml, а на нерезектабилните – 5,74 U/ml, като разликата не е статистически значима ( $p=0,786$ ) (Табл.22) (Фиг.45).

Показател	Резектабилен карцином	N	Mean	Median	SD	Min	Max	p
CA 72-4 U/ml	Не	24	5,74	2,44	6,75	0,71	29,15	0,786*
	Да	26	22,19	2,40	61,64	0,62	300,00	

Таблица 22. Връзката между туморния маркер CA72-4 и резектабилността на стомашния карцином.

\* Mann-Whitney test



Фигура 45. Средната стойност на CA 72-4 при изследваните пациенти и връзката му с резектабилността ( $p=0,786$ )

#### 7.4.2 Обсъждане

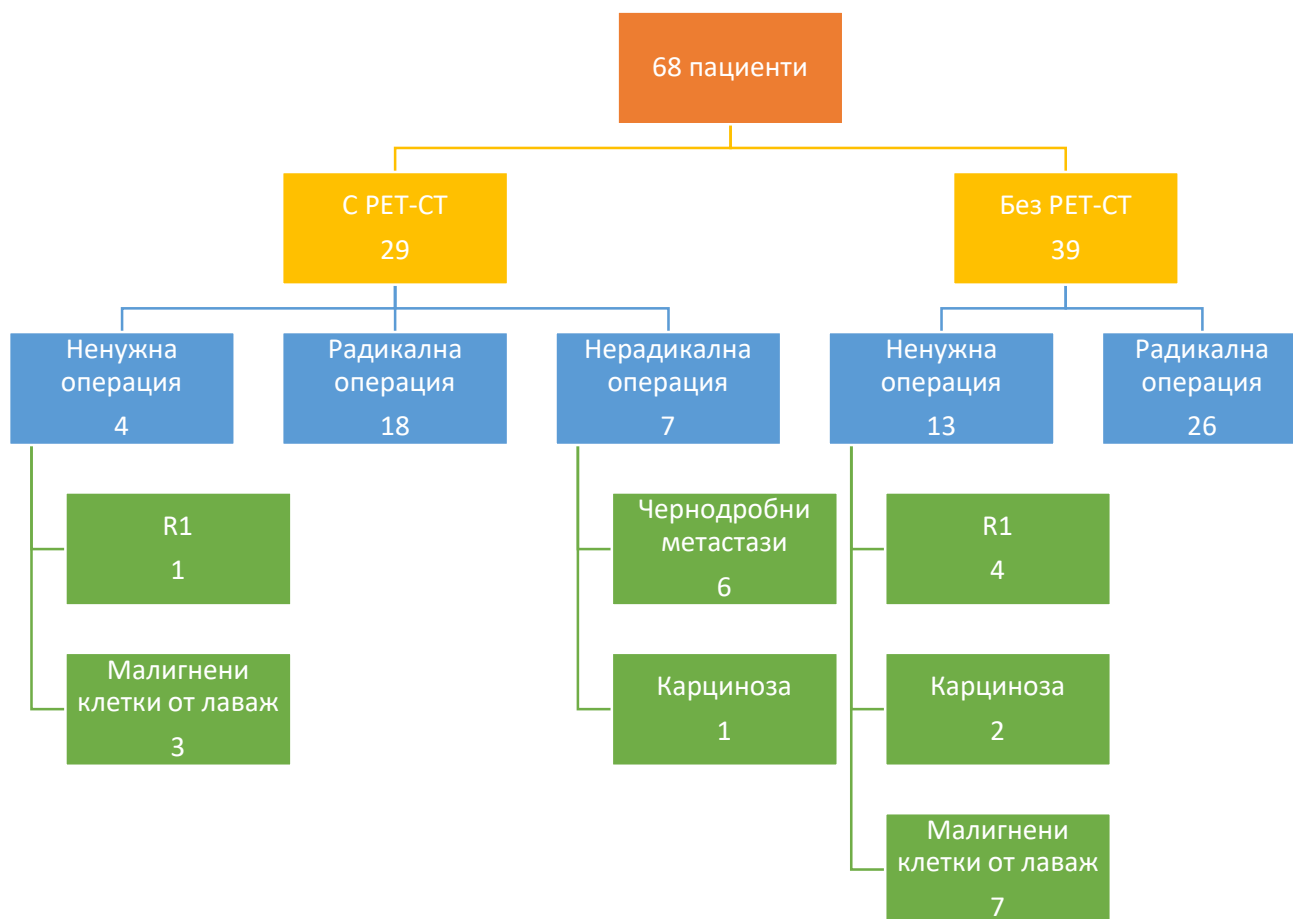
Туморните маркери, не са специфични за определено злокачествено заболяване и се влияят от различни външни фактори като възпаление, тютюнопушене, хранителни навици, придружаващи заболявания и др. При карцином на стомаха основно се използват за предоперативна диагностика и проследяване на ефекта от лечението: следните туморни маркери СЕА, СА 19-9 и СА 72-4. Повечето проучвания изследват тези туморни маркери, както е и в нашето изследване. Ние получаваме средна стойност на СА72-4 - 14,2 U/ml и на СЕА - 19,9 ng/ml, при пациенти със стомашен карцином, които са над референтните стойности на лабораторните данни, което свидетелства за връзка на тези туморни

маркери с карцинома на стомаха. Според Cidón et al. предоперативното серумно ниво на СА72-4 е най – добрия предиктивен показател при оценка на напреднал стомашен карцином, а комбинацията с СЕА и СА19,9 е полезна за предоперативната оценка<sup>389</sup>. Hwang et al. демонстрира, че високите серумни нива на СА19-9 могат да бъдат предиктор за перитонеална дисеминация при стомашен карцином<sup>390</sup>. В проучване на Liu et al. са изследвани серумните нива на СА19-9 и СЕА при пациенти в Т4а стадий, които докладват за статистически значима разлика и твърдят, че повишените серумни нива, могат да бъдат предиктор за локално авансирания туморен стадий<sup>391</sup>. В нашето проучване обаче, ние изследваме връзката на СА72-4 и СЕА с резектабилността, като не се установява статистически значима разлика между стойностите на СА72-4, а при СЕА се установява връзка с резектабилността на тумора. Освен това според нашите резултати, при нерезектабилните тумори, стойностите са по - ниски, което може да се тълкува и с редица фактори, от които те се влияят, като например тютюнопушенето, което е доказан рисков фактор, който ние не сме взели под внимание при провеждане на проучването.

**7.5 ЗАДАЧА 5:** Да се оцени приложението на PET/CT в диагностиката и стадирането на карцинома на стомаха.

### **7.5.1 Резултати**

От проспективно проследените 68 пациенти за периода 2014-2020г., трябва да се отбележи, че анализирането на резултатите по задача 5 е свързано със смисловото изражение на понятията – резектабилност, постигане на онкологичен радикалитет (радикална операция) и определението за „ненужна“ операция. Анализираме пациенти, които са определени като потенциално резектабилни случаи, извършена е резекция на тумора, но при окончателното патохистологично или цитолгично изследване са получени данни, определящи операцията като онкологично нерадикална/ненужна (хистологчно позитивна резекционна линия R1 или малигнени клетки от перитонеален лаваж при цитологичното изследване).



Фигура 46. Обобщените резултати на проучването.

Пациентите които са стадираны с РЕТ/СТ са общо 29, като 4 (17,2%) са с ненужна операция. При 3 от пациентите интраоперативно е установено наличието на малигнени клетки в цитологичното изследване на перитонеалния лаваж. При 1 от пациентите имаме положителна резекционна линия от дуоденума (Фигура 46).

Нестадираните с РЕТ/СТ пациенти са общо 39 от проспективно проследената кохорта, от които 13 (33,3%) са с ненужна операция. Трима са с положителна резекционна линия – 1 поради локално авансирал тумор, с инфилтрация към панкреаса, 1 с положителна линия от хранопровода, 1 от дуоденума и 1 с инфилтрация към дебелото черво. 2<sup>ма</sup> пациенти са с тотална карциноза на перитонеума и 7 са с малигнени клетки в цитологичното изследване на перитонеалния лаваж.

Не се установява статистически значима разлика между пациентите в групата с извършена ненужна операция в зависимост от стадирането с PET-CT ( $p=0,066$ )(Табл.23)

Ненужна операция		PET/CT		Общо	p
		Не	Да		
Не	N	26	25	51	0.066*
	%	66,7%	86,2%	75,0%	
Да	N	13	4	17	
	%	33,3%	13,8%	25,0%	
Общо	N	39	29	68	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Таблица 23 Връзката между предоперативното стадиране на пациентите с PET-CT и резектабилността.

\* Chi-Square Tests

Сигнификатна стойност на SUV на туморната лезия е отбелязан при 20 от пациенти с PET/CT, като средната стойност е 7,75 (Табл.24), при 3<sup>ма</sup> от пациентите – 15% не е регистрирана метаболитна активност от тумора, като при двама от тях липсва метаболитна активност в лимфните възли, хистологичния резултат при тях беше нискодиферинциран аденокарцином - пръстен с камък.

Показател	N	Mean	Median	SD	Min	Max
SUV tumor	20	7,75	7,00	5,18	0,00	17,00

Таблица 24. Стойностите на SUV tumor при пациентите с рак на стомаха.

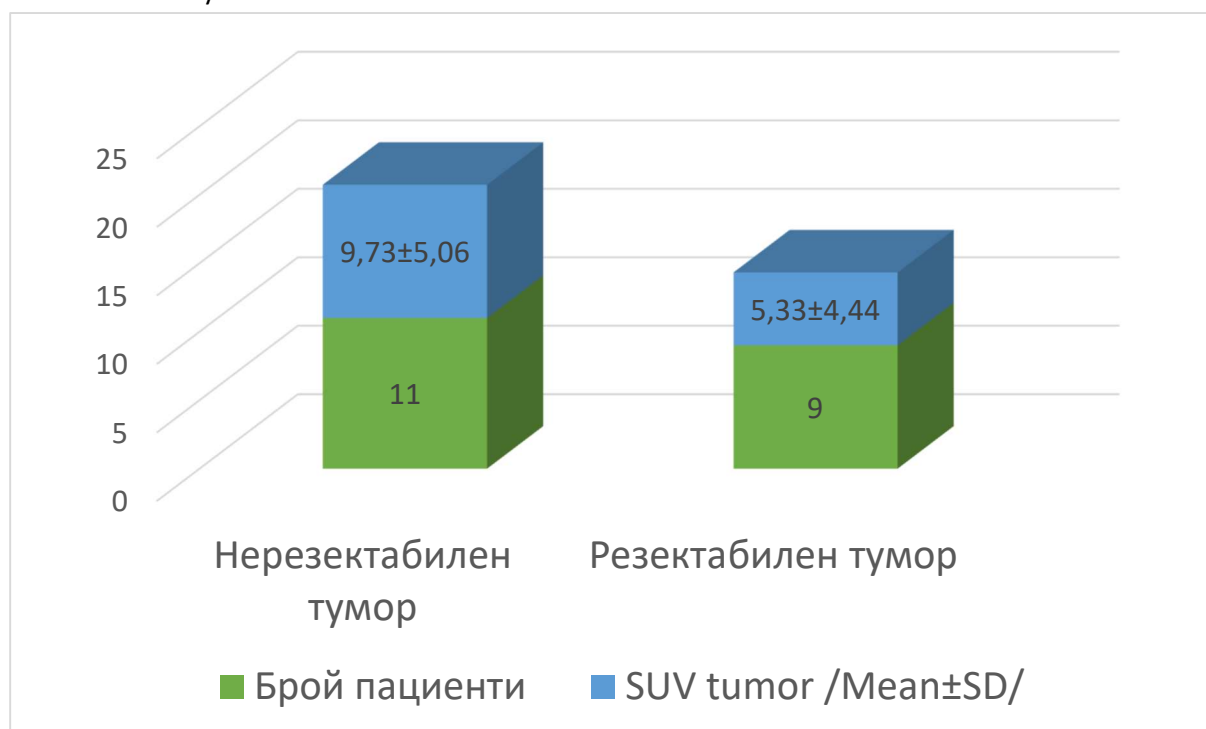
\* Chi-Square Tests

Единадесет (55%) от пациентите, при които е извършено предоперативно стадиране с PET/CT са с нерезектабилен тумор, а 9 (45%) са с резектабилен. Средната стойност на SUV tumor при нерезектабилните е  $9,73 \pm 5,06$ , а при резектабилните  $5,33 \pm 4,44$ , като разликата е значима ( $p=0.039$ )(Табл.25)(Фиг.47).

Показател	Резектабилен карцином	N	Mean	Median	SD	Min	Max	p
SUV tumor	Не	11	9,73	10,00	5,061	0	17	0,039*
	Да	9	5,33	5,00	4,444	0	14	

Таблица 25. Връзка на туморната метаболитна активност (SUV tumor) и резектабилността.

\* Mann-Whitney test



Фигура 47. Връзка на туморната метаболитна активност (SUV tumor) и резектабилността.

### 7.5.2 Обсъждане

Според препоръките на NCCN PET-CT не е задължителен метод за предоперативно стадиране. Редица скорошни проучвания обаче, изследват зависимостта между поглъщането на 18FDG, от туморната тъкан, въпреки че той не е специфичен агент за злокачествените клетки и може да се позитивира при PET-CT при пациенти с доброкачествени лезии на стомаха като полипи, гастрити, а също така да бъде физиологично повишен при пациенти с гастроэзофагеален рефлукс и от нормалната стомашна лигавица<sup>392</sup>.

При 4 от 29 (13,79 % %) от нашите пациенти, PET-CT не само, че не е осигурил правилното стадиране, но са извършени ненужни операции, поради това, че в 3 от случаите не е установена метаболитна активност от перитонеума свидетелстваща за карциноза и в 1 от случаите не е бил достатъчен за преценката на локално авансирал тумор, което е довело до положителна резекционна линия от дуоденума.

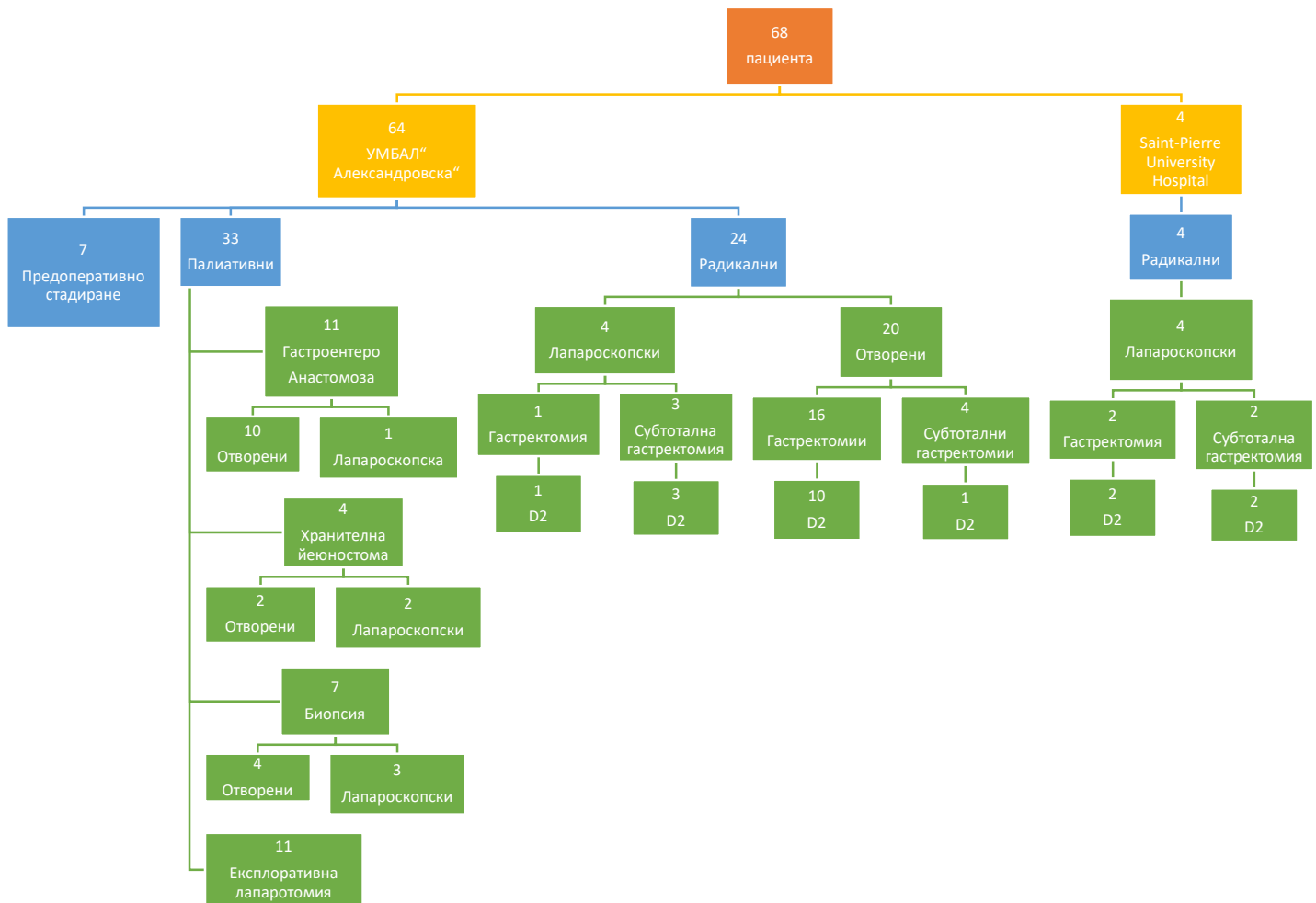
Подобно на нас и други автори докладват за неспецифичността на PET-CT при определянето на перитонеалните метастази и локалния статус на тумора при карцином на стомаха. Въпреки това ние докладваме за по – добро предоперативно стадиране при използването на PET-CT в сравнение с неизползването му, в които случаи е извършена ненужна лапаротомия. През последните години все повече доказателства набира становището за прилагането на диагностичната лапароскопия, при такива неясни случаи, но все още е с неточно изяснени индикации. Така сме подходили и ние в един от случаите, който е бил предоперативно стадиран включително с PET-CT - T3N+M0, но по време на диагностичната лапароскопия се

установява, наличието на малигнени клетки в цитологичното изследване на перитонеалния лаваж.

Много изследвания проучват и връзката на стойностите на SUV на тумора с прогнозата при пациентите с карцином на стомаха и оценка на резултата от неoadювантното лечение. Установена е строга зависимост между стойността на SUV и големината на първичния тумор. Според някои автори, при тумори по – големи от 3,5 см стойностите на SUV се увеличават и инвазията на тумора е по – голяма. Средната стойност на SUV в нашето проучване е  $7,75 \pm 5,18$  като при четирима пациенти тумора е бил по – голям от 3,5см и е бил стадиран като T4. От друга страна някои хистологични варианти на аденокарцинома на стомаха като муцинозния и тип пръстен с камък SUV е с ниски стойност - средно 4,2. В нашето проучване при 3ма от пациентите не се установява активност от първичния тумор при изследването с PET-CT, като при единия обаче има активност от лимфните възли (SUV 4.1)<sup>393</sup>. И при тримата хистологичния вариант е пръстен с камък, като предоперативния стадий е бил съответно T2N0M0, T3N+M1, T2N+M0, а патологичното стадиране е било съответно – T1aN0M0, липса на патологично стадиране поради неизвършване на операция и T1bN0M0. В нашето проучване ние изследваме връзката на SUV на тумора и резектабилността му, която се оказва значима ( $p=0,039$ ). За подобряване на диагностичната стойност на PET-CT, някои автори препоръчват използването на друг радиофармацевтик - FLT-PET. Други пък споменават за потенциалните предимства, които биха могли да донесат новата генерация образни изследвания, като PET-MR и/или PET/CT – MR.

**7.6 ЗАДАЧА 6:** Да се определи значението на лапароскопията за предоперативното стадиране и резектабилността на стомашния карцином.

**7.6.1 Резултати**



Фигура 48. Схематично представени данни от проучването.

От общо 68 изследвани пациенти броя на оперираните пациенти с извършена стомашна резекция са 28 – 8 лапароскопски (28,6%) и 20 отворени операции (71,4%)(Фиг.48). Средната възраст на пациентите в групата на лапароскопския достъп е 62,13±10,99г., като 5<sup>-ма</sup> са от мъжки пол (62,5%) и 3<sup>-ма</sup> от женски (37,5%), а тази на пациентите в групата на лапаротомията е 62,5±9,66г., като 19 са от мъжки пол(63,3%) и 11 са от женски пол (36,7%). Средният индекс на телесна маса при пациентите с лапароскопия е 23,63±4,60 kg/m<sup>2</sup>, а тези при лапаротомия е 24.96±2,86 kg/m<sup>2</sup>. Двете групи са ендородни по отношение на 3<sup>-те</sup> показателя - p=0,900, p=0,965 и p=0,311 (Табл.26,27,28)

Показател	достъп	N	Mean	Median	SD	Min	Max	p
Възраст г	лапароскопия	8	62,13	64,00	10,99	39,00	77,00	0.900*
	лапаротомия	20	62,50	64,50	9,66	43,00	79,00	

Таблица 26. Връзка между вида на операцията и пола на пациентите с карцином на стомаха.

\* Mann-Whitney test

Пол		достъп		Общо	p
		лапароскопия	лапаротомия		
Мъже	N	5	9	14	0.965*
	%	62,5%	45%	50%	
Жени	N	3	11	14	
	%	37,5%	55%	50%	
Общо	N	8	20	28	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Таблица 27. Връзката между вида на операцията и пола на пациентите с рак на стомаха.

\* Fisher's Exact Test

Показател	достъп	N	Mean	Median	SD	Min	Max	p
BMI kg/m <sup>2</sup>	лапароскопия	8	23,63	23,50	4,60	18,00	32,00	0.311*
	лапаротомия	20	24,96	25,00	2,86	20,00	29,00	

Таблица 28. Връзката между вида на операцията и индекса на телесна маса.

\* Mann-Whitney test

D2 лимфна дисекция е извършена при всички пациенти с лапароскопска резекция и при 11 пациента с отворена операция (55%). Не се установява статистически значима разлика от отношение на броя на лимфните възли изолирани повреме на D2 лимфната дисекция, които са съответно 34,25бр.±14,03 при лапароскопската и 24,94бр.±9,31 при групата с отворената операция (p=0,118)(Табл.29)

Показател	достъп	N	Mean	Median	SD	Min	Max	p
ЛВ	лапароскопия	8	34,25	34,00	14,03	16,00	54,00	0,118*
	лапаротомия	11	24,94	22,50	9,31	15,00	41,00	

Таблица 29. Връзката между вида на операцията и изораните лимфни възли.

\* Mann-Whitney test

При трима от пациентите с лапароскопска операция е извършена гастректомия и при други пет е извършена субтотална гастректомия. При 16 от пациентите с отворена операция е извършена гастректомия и при четирима – субтотална гастректомия. Не се установява статистически значима разлика във двете групи по отношение на положителната резекционна линия. При един от пациентите с лапароскопска операция има R1(12,5%), която е от дуоденума. При 6 от пациентите с лапаротомия има R1 (20%) – 3 от дуоденума, 1 от хранопровода, 1 локално авансирал тумор към панкреаса и 1 към дебелото черво.

## 7.6.2 Обсъждане

Лапароскопския достъп при пациентите с карцином на стомаха е с доказани предимства и през последните десетилетия постигна бързо развитие и популярност поради миниинвазивността, значително по-малката кръвозагуба, по-слабата следоперативна болка и респективно намаленото използване на аналгетици и не на последно място, по-бързо възстановяване<sup>394-397</sup>, основно поради доказан по-нисък интензитет на системен възпалителен отговор. Лапароскопската гастректомия е безопасна и технически осъществима при пациенти с ранен и напреднал стадий на рак на стомаха, като оперативната техника е свързана с подобрения в няколко краткосрочни резултата, но най-важното е, че е свързана с намалена заболеваемост и започване в по-кратък период на адювантна терапия<sup>386</sup>. Данни от 5 рандомизирани проучвания докладват, че общата краткосрочна смъртност и заболеваемост са непроменени при миниинвазивния подход при извършването на гастректомия при локално напреднал рак на стомаха в сравнение със стандартната отворена техника<sup>399</sup>. Все още остава дискутабилен въпроса по отношение на преживяемостта и радиакалността на извършените лапароскопски операции, въпреки, че все по-често, проучвания показват, че пациентите подложени на лапароскопска гастректомия имат по-добра преживяемост в сравнение с тези, подложени на отворения метод<sup>400</sup>. В нашето проучване ние демонстрираме, че при извършването на лапароскопска D2 лимфна дисекция се изолират повече ЛВ, макар и разликата да не е статистически значима ( $p=0,118$ ), освен това при лапароскопските операции се извършва, по-често D2 лимфна дисекция, спрямо отворените операции. Cui et al. през 2015г., докладват проучване с 296 пациенти, подложени на лапароскопска

и отворена гастректомия по повод напреднал рак на стомаха. Средният брой на изолираните лимфни възли при D2 лимфна дисекция са, съответно, 29,3 за миниинвазивния и 30,1 за отворения метод<sup>401</sup>. Park et al. през 2017г., разглеждат 207 пациенти и докладват за среден брой на изолирани възли, съответно, 37,0 и 39,7 за лапароскопския и отворения достъп<sup>402</sup>. В нашето проучване ние изолираме  $34,25 \pm 14,03$  за миниинвазивния и  $24,94 \pm 9,31$  за отворения подход, като разликата не е статистически значима.

Голям проблем в стомашната хирургия остава определянето на резекционните линии и все още високия процент на положителна резекционна линия както от дуоденума така и от хранопровода.

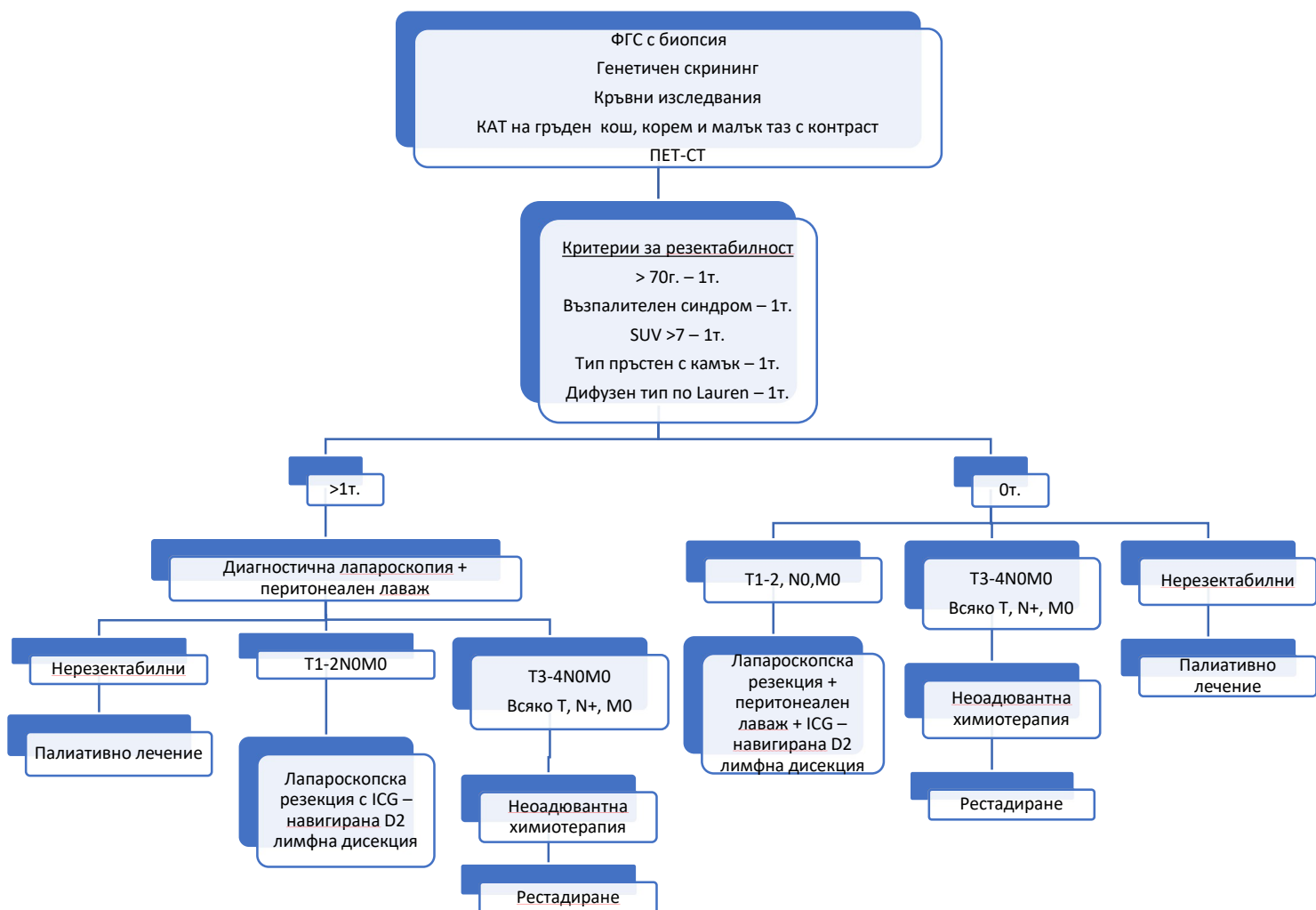
В нашето проучване регистрираме общо 7 пациенти с положителна резекционна линия (18,4%), което се потвърждава и от други автори, от тях само 1 е с лапароскопска операция, а другите 6 са с лапаротомия и въпреки това няма статистически значима разлика ( $p=1,000$ ). Някои автори определят като основна причина, лошия хистологичен вариант, нискодиферинцирания карцином или тип линитис пластика, както е и при трима от нашите пациенти (42,85%). В тези случаи туморът не може да бъде категорично визуализиран, което затруднява определянето на резекционните линии. Ето защо въвеждането на ICG навигирана лимфна дисекция и резекция би имало голямо предимство и полза в тези случаи. При един от нашите пациенти сме използвали предоперативно при гастроскопията, което позволи интраоперативно да се визуализира тумора и всичките лимфни пътища и метастатични лимфни възли. Това би дало още едно голямо предимство на лапароскопския достъп.

**7.7 ЗАДАЧА 7:** Да се създаде предоперативен алгоритъм подобряващ хирургичния радикалитет на стомашния карцином.

След задълбочен анализ на резултатите изведохме основни изводи по всяка една от задачите, които използвахме, за да съставим алгоритъм за детайлизирана диагностика при пациентите с карцином на стомаха с цел подобряване на резектабилността (фиг.49).

- При всички пациенти извършвахме фиброгастроскопия с вземане на биопсичен материал от суспектната формация в стомаха с цел хистологично верифициране. Извършвахме предоперативни параклинични изследвания, пациентите стадирахме със скенер на гръден кош, корем и малък таз с контраст и PET-CT при необходимост. В зависимост от резултатите и литературните данни, формирахме 5 критерия за резектабилност, всеки от които носи (1т), а именно – възраст над 70г., наличие на възпалителен синдром, SUV по голямо от 7, хистологичен тип пръстен с камък и дифузен тип по Lauren.
- При наличието на минимум един от тези 5 критерия е задължително провеждането на диагностична лапароскопия с цел перитонеален лаваж за наличие на атипични клетки и определяне на локалния туморен статус. При нерезектабилните тумори се извършва палиативно лечение. При T1-2, без позитивни локорегионални и далечни метастази, ние препоръчваме извършването на лапароскопска резекция с ICG – навигирана D2 лимфна дисекция. При T3-4 и/или наличие на позитивни локорегионални лимфни възли, без далечни метастази пациента подлежи на неoadювантна химиотерапия с цел downstaging и downsizing и рестадиране, за оценка на отговора.

- При От. или отсъствие на 5-те критерия при предоперативната диагностика подхода е следния – T1-2 и липса на локорегионални и далечни метастази, ние препоръчваме извършването на лапароскопска резекция, перитонеален лаваж с ICG – навигирана D2 лимфна дисекция. Всеки пациент с тумор T3 и T4 или позитивни лимфни възли подлежи на неoadювантна химиотерапия и последващо рестадиране. При несъответствие със клиничния стадий и наличие на нерезектабилен тумор, пациента ще получи диагностична лапароскопия и възможност за палиативно лечение и ще бъде избегната ненужна лапаротомия.



Фигура 49. Алгоритъм за подобряващ хирургичния радикалитет при стомашния карцином

## 8. Изводи

1. Очаква се в бъдеще генетичният анализ да играе съществена роля при стратифицирането на пациентите с карцином на стомаха.
2. Карцинома на стомаха в България се диагностицира късно, като според нашето проучване 49,8% от случаите, приети за лечение са нерезектабилни.
3. При мъжкия рискът за развитие на карцином на стомаха е по-висок.
4. Въпреки че 43,9% от пациентите с карцином на стомаха са с наднормено тегло, ИТМ няма отношение към резектабилността на тумора.
5. Пациентите с нерезектабилен карцином на стомаха имат измерена по-висока стойност на фибриноген и СУЕ в сравнение с тези с резектабилен тумор.
6. Не се установява връзка между стойностите на левкоцитите и резектабилността на тумора при пациенти с карцином на стомаха.
7. Туморните маркери СЕА и СА72-4 се увеличават при повечето пациенти с карцином на стомаха.
8. Не се препоръчва използването на PET-CT в диагностичния алгоритъм при карцином на стомаха.
9. По-високите стойности на SUV на тумора при провеждането на PET-CT корелират с по-висок процент на нерезектабилност.
10. Лапароскопския подход дава възможност и за диагностично доуточняване и по - точно определяне на стадия, с което да се избегне ненужна лапаротомия.

11. Лапароскопския подход при оперативното лечение на стомашния карцином има еквивалентни резултати по отношение на радикалността на резекцията в сравнение с отворения подход.
12. Напредъка на технологиите дава възможност по време на лапароскопския подход да се използват допълнителни техники, които да подобрят радикалността при ранни тумори (T1-T2), като например ICG – навигираната лимфна дисекция.
13. Лапароскопския подход може да се използва и за палиативно лечение при пациентите със симптоматичен карцином на стомаха.

## 9. Приноси

### 9.1 Приноси с оригинален характер.

1. За пръв път в България е направен генетичен анализ на мутации в туморна тъкан при карцином на стомаха.
2. Създаден е оригинален алгоритъм за предоперативна диагностика за определяне на резектабилността на тумора при пациенти с карцином на стомаха.
3. За пръв път в България е приложена техниката за ICG – навигирана лапароскопска лимфна дисекция при пациент с карцином на стомаха.

## 9.2 Научно – теоретични

1. Направен е ретроспективно проучване за демографските показатели и резектабилността на голяма група пациенти – 209 с карцином на стомаха за 15 годишен период.

## 9.3 Научно – практически

1. Създадена е биобанка съдържаща стомашен тумор, нормална стомашна тъкан и венозна кръв, която може да служи за бъдещи изследвания с цел подобряване на резектабилността.
2. Описани са различни техники за гастройеюнална и езофагойеюнална анастомоза при лапароскопска гастректомия.

## 9.4 Потвърдителни

1. Потвърдено е значението на мъжкия пол като рисков фактор за развитие на карцином на стомаха.
2. Потвърдено е потенциалното значение на туморните маркери СЕА и СА72-4 в диагностиката при карцином на стомаха.
3. Наблюдавани са съпоставимите резултати по отношение на радикалността на резекция между лапароскопския и отворения достъп.

## 10. Препоръки

1. Да се насърчи рутинно приложение на диагностичната лапароскопия с перитонеален лаваж за предоперативно стадиране и оценка на ефекта от неоадювантно лечение.
2. Да се въведе в лечебната практика неоадювантна химиотерапия с цел подобряване на резектабилността и преживяемостта при пациентите с карцином на стомаха.
3. Да се увеличи дялът на пациентите със стомашен карцином оперирани с миниинвазивни методики с натрупване на хирургичния опит.

## 11. Списък с научните публикации свързани с дисертационния труд

- 1. Arabadzhiev A**, Grozdev K, Velev G, Bulanov D, Khayat N, Hadzhiminev, Kachakova D, Todorov G, Angelov A. Somatic mutations of tumor tissue in gastric cancer patient – resectability predictor?. *Khirurgiia* 85/2019
- 2. Arabadzhiev A**, Popov Ts, Toshev Sv, Maslyankov Sv., Sokolov M. Individual characteristics and Inflammatory markers - predictors of resectability in gastric cancer. *Khirurgiia* 2022.
- 3. Arabadzhiev A**, Popov Ts, Sokolov M. Laparoscopic gastrectomy with ICG guided D2 lymph node dissection – a case report and review of the literature. *Acta Med. Bulg.* (Impact Factor 0.204 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2021)

## 12. Списък на участията в научни форуми, свързани с темата на дисертационния труд

1. Арабаджиев А, Попов, Цв., Соколов М., Тошев Св. Лапароскопска субтотална гастректомия с ICG - навигирана D2 (D2+) лимфна дисекция - Симпозиум „Съвременно лечение на хирургичните заболявания“ с международно участие, 25-27. 03. 2022г., гр. Русе.

## 13. Библиография

1. Kwan H, McLaren R, Peterson T. The life and times of a great surgeon: Theodor Billroth (1829-1894). *J Invest Surg.* 2001 Jul-Aug;14(4):191-4
2. Kondo T. An experiment in gastric cancer surgery (in Japanese) *Nihon Gekagakkai Zasshi* 1899;1:234-52.
3. Kuru M. Statistical consideration of radical surgery for gastric cancer (in Japanese) *Rinshou Ilgaku* 1935;23:390-6.
4. Kajitani, T. (1981). The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. *The Japanese Journal of Surgery*, 11(2), 127–139.
5. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4). Japanese Gastric Cancer Association. *Gastric Cancer.* 2017 Jan; 20(1):1-19.
6. New Japanese classifications and treatment guidelines for gastric cancer: revision concepts and major revised points. Sano T, Aiko T *Gastric Cancer.* 2011 Jun; 14(2):97-100.
7. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow-up results of the randomised nationwide Dutch D1D2 trial. Songun I, Putter H, Kranenbarg EM, Sasako M, van de Velde CJ *Lancet Oncol.* 2010 May; 11(5):439-49.
8. Blot WJ, Devesa SS, Kneller RW, Fraumeni JF Jr. Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *JAMA* 1991;265:1287-1289.
9. ROBINSON JO. The history of gastric surgery. *Postgrad Med J.* 1960;36(422):706-713.
10. Kitano S, Iso Y, Moriyama M, Sugimachi K. Laparoscopyassisted Billroth I gastrectomy. *Surg Laparosc Endosc* 1994;4: 146–8.
11. Son T, Hyung WJ. Laparoscopic gastric cancer surgery: current evidence and future perspectives. *World J Gastroenterol.* 2016;22:727–35.
12. Alhossaini RM, Altamran AA, Seo WJ, Hyung WJ. Robotic gastrectomy for gastric cancer: Current evidence. *Ann Gastroenterol Surg.* 2017;1(2):82-89.
13. Ma, J., Li, X., Zhao, S. et al. Robotic versus laparoscopic gastrectomy for gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg Onc* 18, 306 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12957-020-02080-7>

14. Son T, Hyung WJ. Robotic gastrectomy for gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2015;112:271–8.
15. Marano A, Choi YY, Hyung WJ, Kim YM, Kim J, Noh SH. Robotic versus laparoscopic versus open gastrectomy: a meta-analysis. *J Gastric Cancer*. 2013;13:136–48.
16. Hashizume M, Shimada M, Tomikawa M, Ikeda Y, Takahashi I, et al. Early experiences of endoscopic procedures in general surgery assisted by a computer-enhanced surgical system. *Surg Endosc* 2002;16:1187-91.
17. Khazaei S, Rezaeian S, Soheylizad M, Khazaei S, Biderafsh A. Global Incidence and Mortality Rates of Stomach Cancer and the Human Development Index: an Ecological Study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17(4):1701-4.
18. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68:394–424.
19. Баев С. и сътр. Коремна хирургия, М.Ф., София, 1990, 133-148.
20. Мушмов М., Райчев Р., Шипков Т. Ръководство по онкология, М.Ф., София, 1996, 239-246.
21. Черноземски И., Мушмов М. Методични указания за диагностика, лечение и проследяване на болни със злокачествени новообразувания, М.Ф., София, 1991, 82-89.
22. Черноземски Ив., Т. Шипков. Онкология 2001, Сиела, 2001, 396-397
23. Черноземски Ив., Каранов Стр., Валерианова Здр. Диагностика, лечение и проследяване на болните със злокачествени новообразувания, Второ изд., “ТераАрт”, София, 2003, 54-61.
24. Здравеопазване. Кратък статистически справочник. Национален център по здравна информация – МЗ, изд. 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006 16-23
25. Greene F. L., D. L. Page, I. D. Fleming, A. Fritz, Ch. M. Balch. *AJCC - American Joint Committee on Cancer - Cancer Staging Handbook 6-th Ed.*, Springer-Verlag, New York, 2002, 57-58.
26. Moss, F.N., Shirin, H., Tahara, E., Cancer of the Stomach. In: *Gastrointestinal Oncology*. Under ed. J. L. Abbruzzese, D. B. Evans, Ch. G. Willett, C. Fenoglio-Preiser, Oxford Univ. Press, 2004, 257-325.

27. Morishita A, Gong J, Masaki T. Targeting receptor tyrosine kinases in gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014 Apr 28; 20(16): 4536–4545.
28. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, Yan H, Gazdar A, Powell SM, Riggins GJ. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science*. 2004;304:554.
29. Schlessinger J. Ligand-induced, receptor-mediated dimerization and activation of EGF receptor. *Cell*. 2002;110:669–672.
30. David L, Seruca R, Nesland JM, Soares P, Sansonetty F, Holm R, Borresen AL, Sobrinho-Simoes M. c-erbB-2 expression in primary gastric carcinomas and their metastases. *Mod Pathol*. 1992;5:384–390.
31. Tsai, JW., Li, CF., Kao, YC. et al. Recurrent Amplification at 7q21.2 Targets CDK6 Gene in Primary Myxofibrosarcomas and Identifies CDK6 Overexpression as an Independent Adverse Prognosticator. *Ann Surg Oncol* 19, 2716–2725 (2012)
32. Cappuzzo, F., A. Marchetti, M. Skokan, E. Rossi, S. et al. "Increased MET Gene Copy Number Negatively Affects Survival of Surgically Resected Non-Small-Cell Lung Cancer Patients." *Journal of Clinical Oncology* (2009): 1667-674.
33. Peng, Zhi, Yan Zhu, Qianqian Wang, Jing Gao, Yilin Li, Yanyan Li, Sai Ge, Lin Shen, and Valli De Re. "Prognostic Significance of MET Amplification and Expression in Gastric Cancer: A Systematic Review with Meta-Analysis." *PLoS ONE* (2014): E84502.
34. Kawakami, Hisato, Isamu Okamoto, Wataru Okamoto, Junko Tanizaki, Kazuhiko Nakagawa, and Kazuto Nishio. "Targeting MET Amplification as a New Oncogenic Driver." *Cancers* 6 (2014): 1540-552.
35. Akiyama Y, Watkins N, Suzuki H, Jair KW, van Engeland M, Esteller M, Sakai H, Ren CY, Yuasa Y, Herman JG, Baylin SB. GATA-4 and GATA-5 transcription factor genes and potential downstream antitumor target genes are epigenetically silenced in colorectal and gastric cancer. *Mol Cell Biol*. 2003;23:8429–8439.
36. Hellebrekers DM, Lentjes MH, van den Bosch SM, Melotte V, Wouters KA, Daenen KL, Smits KM, Akiyama Y, Yuasa Y, Sanduleanu S, et al. GATA4 and GATA5 are potential tumor suppressors and biomarkers in colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15:3990–3997.

37. Manuel H. Schäfer, Philipp Lingohr, Anke Sträßer, Nils C. Lehnen, Martin Braun ,Fibroblast growth factor receptor 1 gene amplification in gastric adenocarcinoma,Human Pathology,2015, 1488-1495
38. Calcagno, D.Q., M.F. Leal, P.P. Assumpção, Conventional cytogenetic characterization of a new M.A.C. Smith and R.R. Burbano, 2008. MYC and cell line, ACP01, established from a primary human gastric adenocarcinoma carcinogenesis. World J. gastric tumor. Braz. J.Med. Biol. Res., 37: 1831-1838. Gastroenterol., 14: 5962-5968
39. Persson, H. and P. Leder, 1984. Nuclear P.P. Assumpção, S. Demachki, M.A.C. Smith and localization and DNA binding properties of a R.R. Burbano, 2005. Aneuploidy of chromosome 8 protein expressed by human c-myc oncogene. and C-MYC amplification in individuals from Science,225: 718-721
40. Weinberg, R.A., 2008. A Biologia do Câncer. Porto 1992. Myc and Max proteins possess distinct Alegre, RS: Artmed
41. Herold, S., B.Herkert and M. Eilers, 2009. Facilitating D.Q. Calcagno, A.C. Guimarães, A.S. Khayat, replication under stress: an oncogenic function of S.S. Takeno, E.S. Chen and M.A.C. Smith, 2006. MYC? Nat Rev Cancer, 9: 441-444
42. KATARZYNA GUZIŃSKA-USTYMOWICZ, ANNA PRYCZYNICZ, ANDRZEJ KEMONA, PTP4A3 Expression Increases Strongly in Lymph Node Metastases from Colorectal Carcinoma, Anticancer Research Oct 2009, 29 (10) 3913-3916;
43. Zhang X, Ibrahimi OA, Olsen SK, Umemori H, Mohammadi M, Ornitz DM. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. The complete mammalian FGF family. J Biol Chem 2006; 281: 15694–700.
44. Nakatani H, Sakamoto H, Yoshida T, et al. Isolation of an amplified DNA sequence in stomach cancer. Jpn J Cancer Res 1990; 81: 707–10.
45. Hattori Y, Odagiri H, Nakatani H, et al. K-sam, an amplified gene in stomach cancer, is a member of the heparin-binding growth factor receptor genes. Proc Natl Acad Sci U S A 1990; 87: 5983–7.
46. Yamashita Y, Nishida K, Okuda T, et al. Recurrent chromosomal rearrangements at bands 8q24 and 11q13 in gastric cancer as detected by multicolor spectral karyotyping. World J Gastroenterol. 2005;11(33):5129-5135.

47. Ayatollahi H, Tavassoli A, Jafarian AH, et al. KRAS Codon 12 and 13 Mutations in Gastric Cancer in the Northeast Iran. *Iran J Pathol.* 2018;13(2):167-172.
48. Dong JT, Chen C. Essential role of KLF5 transcription factor in cell proliferation and differentiation and its implications for human diseases. *Cell Mol Life Sci* 2009;66:2691–706.
49. Diakiw SM, D'Andrea RJ, Brown AL. The double life of KLF5: opposing roles in regulation of gene-expression, cellular function, and transformation. *IUBMB Life* 2013;65:999–1011
50. El-Rifai W, Frierson HF Jr, Moskaluk CA, Harper JC, Petroni GR, Bissonette EA, Jones DR, Knuutila S, Powell SM. Genetic differences between adenocarcinomas arising in Barrett's esophagus and gastric mucosa. *Gastroenterology* 2001;121:592–8.
51. Kokkola A, Monni O, Puolakkainen P, Larramendy ML, Victorzon M, Nordling S, Haapiainen R, Kivilaakso E, Knuutila S. 17q12–21 amplicon, a novel recurrent genetic change in intestinal type of gastric carcinoma: a comparative genomic hybridization study. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 20:38–43.
52. Vidgren V, Varis A, Kokkola A, Monni O, Puolakkainen P, Nordling S, Forozan F, Kallioniemi A, Vakkari ML, Kivilaakso E, Knuutila S. Concomitant gastrin and ERBB2 gene amplifications at 17q12-q21 in the intestinal type of gastric cancer. *Genes Chromosomes Cancer.* 1999 Jan;24(1):24-9.
53. Yue Qiu, Zuo-Yang Zhang, Wei-Dong Du, Lei Ye, Song Xu, Xian-Bo Zuo Association analysis of ERBB2 amplicon genetic polymorphisms and STARD3 expression with risk of gastric cancer in the Chinese population, *Gene*, 10.1016/j.gene.2013.11.030, 535, 2, (225-232), (2014).
54. Varis A, Wolf M, Monni O, Vakkari M, Kokkola A, Moskaluk C, Frierson HF Jr, Powell SM, Knuutila S, Kallioniemi A, El-Rifai W. Targets of gene amplification and overexpression at 17q in gastric cancer. *Cancer Res* 2002;62:2625–9.
55. Forozan F, Mahlamaki EH, Monni O, Chen Y, Veldman R, Jiang Y, Gooden GC, Ethier SP, Kallioniemi A, Kallioniemi OP. Comparative genomic hybridization analysis of 38 breast cancer cell lines: a basis for interpreting complementary DNA microarray data. *Cancer Res* 2000;60:4519–25.

56. Mahlamaki EH, Barlund M, Tanner M, Gorunova L, Hoglund M, Karhu R, Kallioniemi A. Frequent amplification of 8q24, 11q, 17q, and 20q-specific genes in pancreatic cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2002;35:353–8.
57. Bown N, Lastowska M, Cotterill S, O'Neill S, Ellershaw C, Roberts P, Lewis I, Pearson AD, U.K. Cancer Cytogenetics Group and the U.K. Children's Cancer Study Group. 17q gain in neuroblastoma predicts adverse clinical outcome. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:14–9.
58. Ishikawa T, Kobayashi M, Mai M, Suzuki T, Ooi A. Amplification of the c-erbB-2 (HER-2/neu) gene in gastric cancer cells: detection by fluorescence in situ hybridization. *Am J Pathol* 1997;151:761–8.
59. Ooi A, Kobayashi M, Mai M, Nakanishi I. Amplification of c-erbB-2 in gastric cancer: detection in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by fluorescence in situ hybridization. *Lab Invest* 1998;78:345–51.
60. Park J, Rhim J, Park S, Kimm S, Kraus M. Amplification, overexpression, and rearrangement of the erbB-2 protooncogene in primary human stomach carcinomas. *Cancer Res* 1989;49:6605–9.
61. Dulak AM, Schumacher S, van Lieshout J, Imamura Y, Fox C, Shim B et al. Gastrointestinal adenocarcinomas of the esophagus, stomach and colon exhibit distinct patterns of genome instability and oncogenesis. *Cancer Res* 2012;72:4383–4393.
62. Beuling E, Baffour-Awuah NY, Stapleton KA, Aronson BE, Noah TK, Shroyer NF et al. GATA factors regulate proliferation, differentiation, and gene expression in small intestine of mature mice. *Gastroenterology* 2011;140: 1219–1229.
63. Holtzinger A, Evans T. Gata4 regulates the formation of multiple organs. *Development* 2005;132: 4005–4014.
64. Tamura S, Wang XH, Maeda M, Futai M. Gastric DNA-binding proteins recognize upstream sequence motifs of parietal cell-specific genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91: 4609 1993;90:10876-80
65. Gao X, Sedgwick T, Shi YB, Evans T. Distinct functions are implicated for the GATA- 4, -5, and -6 transcription factors in the regulation of intestine epithelial cell differentiation. *Mol Cell Biol* 1998;18: 2901-2911.

66. Fu B, Luo M, Lakkur S, Lucito R, Iacobuzio-Donahue CA. Frequent genomic copy number gain and overexpression of GATA-6 in pancreatic carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2008;7: 1593–1601
67. Kwei KA, Bashyam MD, Kao J, Ratheesh R, Reddy EC, Kim YH et al. Genomic profiling identifies GATA6 as a candidate oncogene amplified in pancreatobiliary cancer. *PLoS Genet* 2008; 4 : e1000081
68. Leung SY, Ho C, Tu IP, Li R, So S, Chu KM, Yuen ST, Chen X. Comprehensive analysis of 19q12 amplicon in human gastric cancers. *Mod Pathol*. 2006 Jun;19(6):854-63.
69. Robert A. Kyle, David P. Steensma, Marc A. Shampo, Barry James Marshall—Discovery of *Helicobacter pylori* as a Cause of Peptic Ulcer, *Mayo Clinic Proceedings*, 2016, e67-e68
70. Ahmed N. 23 years of the discovery of *Helicobacter pylori*: is the debate over? *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2005;4:17.
71. Mukaisho K, Nakayama T, Hagiwara T, et al. Two distinct etiologies of gastric cardia adenocarcinoma: interactions among pH, *Helicobacter pylori*, and bile acids. *Front Microbiol*. 2015;6:412.
72. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR) Continuous Update Project Report: Diet, Nutrition, Physical Activity and Stomach Cancer 2016. Revised 2018. London: World Cancer Research Fund International; 2008.
73. Moayyedi P. Should we test for *Helicobacter pylori* before treating gastroesophageal reflux disease? *Can J Gastroenterol*. 2005;19:425–427.
74. Cancer Research UK <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/stomach-cancer/survival#heading-Two>. Accessed October 3, 2018. In.
75. Graham DY. *Helicobacter pylori* update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits. *Gastroenterology*. 2015;148:719–31.
76. Peng YC, Huang LR, Lin CL, et al. Association between proton pump inhibitors use and risk of gastric cancer in patients with GERD. *Gut*. 2018
77. Hansson LE, Nyren O, Hsing AW, et al. The risk of stomach cancer in patients with gastric or duodenal ulcer disease. *N Engl J Med*. 1996;335:242–9.

78. Molloy RM, Sonnenberg A. Relation between gastric cancer and previous peptic ulcer disease. *Gut*. 1997;40:247–52.
79. Take S, Mizuno M, Ishiki K, et al. The effect of eradicating *Helicobacter pylori* on the development of gastric cancer in patients with peptic ulcer disease. *Am J Gastroenterol*. 2005;100:1037–42.
80. Wu AH, Tseng CC, Bernstein L. Hiatal hernia, reflux symptoms, body size, and risk of esophageal and gastric adenocarcinoma. *Cancer*. 2003;98:940–8.
81. Ye W, Chow WH, Lagergren J, et al. Risk of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia in patients with gastroesophageal reflux diseases and after antireflux surgery. *Gastroenterology*. 2001;121:1286–93.
82. Derakhshan MH, Malekzadeh R, Watabe H, et al. Combination of gastric atrophy, reflux symptoms and histological subtype indicates two distinct aetiologies of gastric cardia cancer. *Gut*. 2008;57:298–305.
83. Demicco EG, Farris AB, 3rd, Baba Y, et al. The dichotomy in carcinogenesis of the distal esophagus and esophagogastric junction: intestinal-type vs. cardiac-type mucosa-associated adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 2011;24:1177–90.
84. Abrams JA, Gonsalves L, Neugut AI. Diverging trends in the incidence of reflux-related and *Helicobacter pylori*-related gastric cardia cancer. *J Clin Gastroenterol*. 2013;47:322–7.
85. Wang XQ, Terry PD, Yan H. Review of salt consumption and stomach cancer risk: epidemiological and biological evidence. *World J Gastroenterol*. 2009;15(18):2204-2213
86. Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric Cancer*. 2007;10:75–83.
87. Ferro A, Costa AR, Morais S, Bertuccio P, et al. Fruits and vegetables intake and gastric cancer risk: A pooled analysis within the Stomach cancer Pooling Project. *Int J Cancer*. 2020 Dec 1;147(11):3090-3101.
88. Huang, Y., Chen, H., Zhou, L., Li, G., Yi, D., Zhang, Y., (2017). Association between green tea intake and risk of gastric cancer: A systematic review and dose–response meta-analysis of observational studies. *Public Health Nutrition*, 20(17), 3183-3192.

89. Zhang J, Su XQ, Wu XJ, Liu YH, Wang H, Zong XN, Wang Y, Ji JF: Effect of body mass index on adenocarcinoma of gastric cardia. *World J Gastroenterol* 19, 2658-2661 (2003)
90. Kern L, Mittenbühler MJ, Vesting AJ, Ostermann AL, Wunderlich CM, Wunderlich FT. Obesity-Induced TNF $\alpha$  and IL-6 Signaling: The Missing Link between Obesity and Inflammation-Driven Liver and Colorectal Cancers. *Cancers (Basel)*. 2018;11(1):24.
91. Lin XJ, Wang CP, Liu XD, et al. Body mass index and risk of gastric cancer: a meta-analysis. *Jpn J Clin Oncol*. 2014;44:783–91.
92. Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. *Prz Gastroenterol*. 2019;14(1):26-38.
93. Kuipers EJ. Pernicious anemia, atrophic gastritis, and the risk of cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13:2290–2.
94. Aird I, Bentall HH, Roberts JA. A relationship between cancer of stomach and the ABO blood groups. *Br Med J*. 1953;1:799–801.
95. Hoskins LC, Loux HA, Britten A, Zamcheck N. Distribution of ABO blood groups in patients with pernicious anemia, gastric carcinoma and gastric carcinoma associated with pernicious anemia. *N Engl J Med*. 1965;273:633–7.
96. Edgren G, Hjalgrim H, Rostgaard K, et al. Risk of gastric cancer and peptic ulcers in relation to ABO blood type: a cohort study. *Am J Epidemiol*. 2010;172:1280–5.
97. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68:394–424.
98. Freedman ND, Chow WH, Gao YT, et al. Menstrual and reproductive factors and gastric cancer risk in a large prospective study of women. *Gut*. 2007;56:1671–7.
99. Camargo MC, Goto Y, Zabaleta J, et al. Sex hormones, hormonal interventions, and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012;21:20–38.
100. Sheh A, Ge Z, Parry NM, et al. 17 $\beta$ -estradiol and tamoxifen prevent gastric cancer by modulating leukocyte recruitment and oncogenic pathways in *Helicobacter pylori*-infected INS-GAS male mice. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011;4:1426–35.
101. Wang Z, Butler LM, Wu AH, et al. Reproductive factors, hormone use and gastric cancer risk: the Singapore Chinese Health Study. *Int J Cancer*. 2016;138:2837–45.

102. Borrmann R: Geschwulste des Magens und Duodenums; in Henke F, Lubarsch O (eds): Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie. Berlin, Springer, 1926, pp 864-871.
103. The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon: November 30 to December 1, 2002. *Gastrointest Endosc* 2003;58:S3-S43.
104. Nishi M, Ichikawa H, Nakajima T: *Gastric Cancer*. Santa Clara, Springer/Telos, 1994.
105. Li C, Oh SJ, Kim S, Hyung WJ, Yan M, Zhu ZG, et al: Macroscopic Borrmann type as a simple prognostic indicator in patients with advanced gastric cancer. *Oncology* 2009;77:197-204.
106. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1965;64:31–49.
107. Lauren PA, Nevalainen TJ: Epidemiology of intestinal and diffuse types of gastric carcinoma a time-trend study in Finland with comparison between studies from high- and low-risk areas. *Cancer* 1993;71:2926-2933.
108. Fléjou JF. [WHO Classification of digestive tumors: the fourth edition] *Ann Pathol*. 2011;31:S27–S31.
109. Hu B, El Hajj N, Sittler S, Lammert N, Barnes R, Meloni-Ehrig A. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *J Gastrointest Oncol*. 2012;3:251–261.
110. Sarbia M, Becker KF, Höfler H. Pathology of upper gastrointestinal malignancies. *Semin Oncol*. 2004;31:465–475.
111. Werner M, Becker KF, Keller G, Höfler H. Gastric adenocarcinoma: pathomorphology and molecular pathology. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2001;127:207–216.
112. Ribeiro MM, Sarmiento JA, Sobrinho Simões MA, Bastos J. Prognostic significance of Lauren and Ming classifications and other pathologic parameters in gastric carcinoma. *Cancer*. 1981;47:780–784.
113. Hass HG, Smith U, Jäger C, Schäffer M, Wellhäuber U, Hehr T, Markmann HU, Nehls O, Denzlinger C. Signet ring cell carcinoma of the stomach is significantly associated with

- poor prognosis and diffuse gastric cancer (Lauren's): single-center experience of 160 cases. *Onkologie*. 2011;34:682–686.
114. Taghavi S, Jayarajan SN, Davey A, Willis AI. Prognostic significance of signet ring gastric cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30:3493–3498.
  115. Alakus H, Batur M, Schmidt M, Drebber U, Baldus SE, Vallböhmer D, Prenzel KL, Metzger R, Bollschweiler E, Hölscher AH, et al. Variable 18F-fluorodeoxyglucose uptake in gastric cancer is associated with different levels of GLUT-1 expression. *Nucl Med Commun*. 2010;31:532–538.
  116. Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, Maeo S, Kitano S. Papillary adenocarcinoma of the stomach. *Gastric Cancer*. 2000;3:33–38.
  117. Zheng HC, Zheng YS, Xia P, Xu XY, Xing YN, Takahashi H, Guan YF, Takano Y. The pathobiological behaviors and prognosis associated with Japanese gastric adenocarcinomas of pure WHO histological subtypes. *Histol Histopathol*. 2010;25:445–452.
  118. Kawamura H, Kondo Y, Osawa S, Nisida Y, Okada K, Isizu H, Uebayasi T, Takahasi M, Hata T. A clinicopathologic study of mucinous adenocarcinoma of the stomach. *Gastric Cancer*. 2001;4:83–86.
  119. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. *Gastric Cancer*. 2011;14:101–112.
  120. Fujii T, Yoshida S, Abe K, Saito D, Yamaguchi H, Oguro Y, Maruyama K, Ochiai A, Hirota T. “Very well differentiated tubular adenocarcinoma” of the stomach: its endoscopic and histopathological characteristics. *Jpn J Clin Oncol*. 1994;24:128–134.
  121. Ming SC. Gastric carcinoma. A pathobiological classification. *Cancer*. 1977;39:2475–2485.
  122. Goseki N, Takizawa T, Koike M. Differences in the mode of the extension of gastric cancer classified by histological type: new histological classification of gastric carcinoma. *Gut*. 1992;33:606–612.
  123. Murakami T. Pathomorphological diagnosis. Definition and gross classification in early gastric cancer. *GANN Mono* 1971, 11, 53–55.

124. Misra N., R. Hardwick. The Role of Surgery in Cancer of the Stomach. In: *Gastrointestinal Oncology. Evidence and Analysis*. Informa-Healthcare. New York. London., Ed. by McCulloch P., M. S. Karpeh, D. J. Kerr, Jaffer Ajani, 2007, 74-84.
125. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. *TNM classification of malignant tumours*. 7. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2009.
126. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. *AJCC cancer staging manual*. 7. Berlin: Springer; 2009.
127. Dikken JL, van de Velde CJ, Gonen M, Verheij M, Brennan MF, Coit DG. The New American Joint Committee On Cancer/International Union against cancer staging system for adenocarcinoma of the stomach: increased complexity without clear improvement in predictive accuracy. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(8):2443–51.
128. He X, Wu W, Lin Z, Ding Y, Si J, Sun LM. Validation of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) 8th edition stage system for gastric cancer patients: a population-based analysis. *Gastric Cancer*. 2018;21(3):391–400.
129. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershewald JE, Brookland RK, Meyer L, Gress DM, Byrd DR, Winchester DP. The eighth edition AJCC cancer staging manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(2):93–9.
130. Chae S, Lee A, Lee JH. The effectiveness of the new (7th) UICC N classification in the prognosis evaluation of gastric cancer patients: a comparative study between the 5th/6th and 7th UICC N classification. *Gastric Cancer*. 2011;14(2):166–171.
131. Fang WL, Huang KH, Chen JH, Lo SS, Hsieh MC, Shen KH, et al. Comparison of the survival difference between AJCC 6th and 7th editions for gastric cancer patients. *World J Surg*. 2011;35(12):2723–2729.
132. Marrelli D, Morgagni P, de Manzoni G, Coniglio A, Marchet A, Saragoni L, et al. Prognostic value of the 7th AJCC/UICC TNM classification of noncardia gastric cancer: analysis of a large series from specialized Western centers. *Ann Surg*. 2012;255(3):486–491.
133. Sun Z, Wang ZN, Zhu Z, Xu YY, Xu Y, Huang BJ, et al. Evaluation of the seventh edition of American Joint Committee on Cancer TNM staging system for gastric cancer: results from a Chinese monoinstitutional study. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(6):1918–1927.

134. Dikken JL, van de Velde CJ, Gonen M, Verheij M, Brennan MF, Coit DG. The New American Joint Committee on Cancer/International Union Against Cancer staging system for adenocarcinoma of the stomach: increased complexity without clear improvement in predictive accuracy. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(8):2443–2451.
135. Suh YS, Han DS, Kong SH, Lee HJ, Kim YT, Kim WH, et al. Should adenocarcinoma of the esophagogastric junction be classified as esophageal cancer? A comparative analysis according to the seventh AJCC TNM classification. *Ann Surg*. 2012;255(5):908–915.
136. Brierley JD, Gospodarwicz MK, Wittekind C, Amin MB. *TNM classification of malignant tumours*. 8. Oxford: Wiley Blackwell; 2017.
137. Amin MB, Edge SB, Greene FL, Brierley JD. *AJCC cancer staging manual*. 8. New York: Springer; 2017.
138. Sano T, Coit DG, Kim HH, Roviello F, Kassab P, Wittekind C, et al. Proposal of a new stage grouping of gastric cancer for TNM classification: International Gastric Cancer Association staging project. *Gastric Cancer*. 2017;20(2):217–225.
139. *Practice Guidelines in Oncology*. National Comprehensive Cancer Network (NCCN), 2007, v. 2, 1-27.
140. American Joint Committee on Cancer: Stomach. *AJCC Cancer Staging Manual*, 6th ed. Greene F, Page DL, Fleming ID, et al, Eds. Springer-Verlag, New York, 2002, p. 15-99.
141. Karpeh M. S., D.P. Kelsen, J.E. Tepper. Cancer of the stomach, In: *Cancer: Principles and Practice of Oncology* 6th ed., Under edit. T. DeVita, S. Hellman, S. A. Rosenberg, Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2001, 2123-2189.
142. Mansfield P.F, J.C. Yao, Ch.H. Crane. Gastric Cancer. In: *Cancer Medicine* 6th ed., 2003, ed. by Kufe D. W., R.E. Pollock, R.R. Weichselbaum, R.C. Bast, T. S. Gansler, J. F. Holland, E. Frei III, publ. BC Decker Inc. Hamilton – London, 2491-2539.
143. Palli D., Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence. *J Gastroenterol*. 2000,35, Suppl 12, 84-9.
144. Nitti D., Alberto M., M. Olivieri, A. Ambrosi, R. Mencarelli, C. Belluco, M. Lise. Ratio Between Metastatic and Examined Lymph Nodes Is an Independent Prognostic Factor After D2 Resection for Gastric Cancer: Analysis of a Large European Monoinstitutional Experience. *Annals of Surgical Oncology*, 2003, 10, 9, 1077–1085.

145. Hermanek, P. pTNM and residue tumor classification: Problems of assessment and prognostic significance. *W.J.Surg.* 1995, 23, 325-335.
146. Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, Haustermans K, Prenen H. Gastric cancer. *Lancet.* 2016;388:2654–2664.
147. Waddell T, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D; European Society for Medical Oncology (ESMO); European Society of Surgical Oncology (ESSO); European Society of Radiotherapy and Oncology (ESTRO) Gastric cancer: ESMO-ESSO-ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2013;24 Suppl 6:vi57–vi63.
148. Wu CX, Zhu ZH. Diagnosis and evaluation of gastric cancer by positron emission tomography. *World J Gastroenterol.* 2014;20:4574–4585.
149. Burke EC, Karpeh MS, Conlon KC, Brennan MF: Laparoscopy in the management of gastric adenocarcinoma. *Ann Surg.* 1997, 225: 262-267.
150. Yun M. Imaging of Gastric Cancer Metabolism Using 18 F-FDG PET/CT. *J Gastric Cancer.* 2014;14:1–6.
151. Ahmad SA, Xia BT, Bailey CE, Abbott DE, Helmink BA, Daly MC, Thota R, Schlegel C, Winer LK, Ahmad SA, et al. An update on gastric cancer. *Curr Probl Surg.* 2016;53:449–490.
152. Mestier L, Lardièrre-Deguelte S, Volet J, Kianmanesh R, Bouché O. Recent insights in the therapeutic management of patients with gastric cancer. *Dig Liver Dis.* 2016;48:984–994.
153. Lee JW, Lee MS, Chung IK, Son MW, Cho YS, Lee SM. Clinical implication of FDG uptake of bone marrow on PET/CT in gastric cancer patients with surgical resection. *World J Gastroenterol.* 2017;23:2385–2395.
154. Fukuda N, Sugiyama Y, Wada J. Prognostic factors of T4 gastric cancer patients undergoing potentially curative resection. *World J Gastroenterol.* 2011;17(9):1180-1184.
155. Alicia B., Lucas G., Hylke J.F. et al. Imaging strategies in the management of gastric cancer: current role and future potential of MRI *The British Journal of Radiology* 2019 92:1097

156. Kang BC, Kim JH, Kim KW, et al. Value of the dynamic and delayed MR sequence with Gd-DTPA in the T-staging of stomach cancer: correlation with the histopathology. *Abdom Imaging*. 2000;25:14–24.
157. Vuysere S, Vandecaveye V, Bruecker Y, Carton S, Vermeiren K, Accuracy of whole-body diffusion-weighted MRI (WB-DWI/MRI) in diagnosis, staging and follow-up of gastric cancer, in comparison to CT: a pilot study, *BMC Medical Imaging*, 21, 1, (2021)
158. Wang CK, Kuo YT, Liu GC, Tsai KB, Huang YS. Dynamic contrast-enhanced subtraction and delayed MRI of gastric tumors: radiologic-pathologic correlation. *J Comput Assist Tomogr*. 2000;24:872–877.
159. Lee DH, Kim SH, Joo I, Hur BY, Han JK. Comparison between 18F-FDG PET/MRI and MDCT for the assessment of preoperative staging and resectability of gastric cancer. *Eur J Radiol*. 2016;85:1085–1091.
160. Caivano R , Rabasco P , Lotumolo A , D' Antuono F , Zandolino A , Villonio A , et al . Gastric cancer: the role of diffusion weighted imaging in the preoperative staging . *Cancer Invest* 2014 ; 32 : 184 – 90 .
161. Oi H, Matsushita M, Murakami T, et al. Dynamic MR imaging for extraserosal invasion of advanced gastric cancer. *Abdom Imaging* 1997;22:35–40.
162. Wang C-K, Kuo Y-T, Liu G-C, et al. Dynamic contrast-enhanced subtraction and delayed MRI of gastric tumors: radiologic–pathologic correlation. *J Comput Assist Tomogr* 2000;24:872–877
163. Giganti, F., Tang, L. & Baba, H. Gastric cancer and imaging biomarkers: Part 1 – a critical review of DW-MRI and CE-MDCT findings. *Eur Radiol* 29, 1743–1753 (2019).
164. Zeng Q, Hong Y, Cheng Y, Cai W, Zhuo W, Quantitative study of preoperative staging of gastric cancer using intravoxel incoherent motion diffusion-weighted imaging as a potential clinical index, *European Journal of Radiology*,(2021)
165. Brennan MF, Karpeh MS Jr. Surgery for gastric cancer: the American view. *Semin Oncol* 1996;23:352–359
166. Dortman RE, Alpern MB, Gross BH, et al. Upper abdominal lymph nodes:criteria for normal size determined with CT. *Radiology* 1991; 180:319–322
167. Trenkner SW, Halvorsen RA, Thompson WM. Neoplasms of the upper gastrointestinal tract. *Radiol Clin North Am* 1994;32:15–24

168. Kim AY, Han JK, Kim TK, et al. MR imaging of advanced gastric cancer: comparison of various MR pulse sequences using water and gadopentetate dimeglumine as oral contrast agents. *Abdom Imaging* 2000;25:7–14
169. Sohn KM, Lee JM, Lee SY, et al. Comparing MR imaging and CT in the staging of gastric carcinoma. *AJR* 2000;174:1551–1557
170. Harisinghani MG, Saini S, Weissleder R, et al. MR lymphangiography using ultrasmall superparamagnetic iron oxide in patients with primary abdominal and pelvic malignancies: radiographic/pathologic correlation. *AJR* 1999;172:1347–1351
171. Imam K, Bluemke DA. MR imaging in the evaluation of hepatic metastases. *Magn Reson Imaging Clin North Am* 2000;8:741–756
172. Puli SR, Batapati Krishna Reddy J, Bechtold ML, et al. How good is endoscopic ultrasound for TNM staging of gastric cancer? A meta-analysis and systematic review. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4011–4019.
173. Yanai H, Noguchi T, Mizumachi S, et al. A blind comparison of the effectiveness of endoscopic ultrasonography and endoscopy in staging early gastric cancer. *Gut* 1999; 44: 361–365.
174. Mocellin S, Marchet A, Nitti D. EUS for the staging of gastric cancer: A meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 1122–1134.
175. Choi J, Kim SG, Im JP, et al. Is endoscopic ultrasonography indispensable in patients with early gastric cancer prior to endoscopic resection? *Surg Endosc* 2010; 24: 3177–3185.
176. Pei Q, Wang L, Pan J, et al. Endoscopic ultrasonography for staging depth of invasion in early gastric cancer: A meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2015; 30: 1566–1573.
177. Dittler HJ, Siewert JR. Role of endoscopic ultrasonography in gastric carcinoma. *Endoscopy*. 1993;25:162–166.
178. Endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration biopsy of lesions in the upper gastrointestinal tract. Vilmann P, Hancke S, Henriksen FW, Jacobsen GK *Gastrointest Endosc*. 1995 Mar; 41(3):230-5.
179. Chang KJ, Albers CG, Nguyen P. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of pleural and ascitic fluid. *Am J Gastroenterol*. 1995;90:148–150.

180. Chu KM, Kwok KF, Law S, Wong KH. A prospective evaluation of catheter probe EUS for the detection of ascites in patients with gastric carcinoma. *Gastrointest Endosc.* 2004;59:471–474.
181. Nguyen PT, Chang KJ. EUS in the detection of ascites and EUS-guided paracentesis. *Gastrointest Endosc.* 2001;54:336–339.
182. Faige DO. EUS in patients with benign and malignant lymphadenopathy. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 593–598.
183. Doğan ÜB, Gümürdülü Y, Gölge N, Kara B. Relationship of CA 19-9 with choledocholithiasis and cholangitis. *Turk J Gastroenterol.* 2011;22(2):171-7.
184. Bergamaschi S, Morato E, Bazzo M, Neves F, Fialho S, Castro G, Zimmermann A, Pereira I. Tumor markers are elevated in patients with rheumatoid arthritis and do not indicate presence of cancer. *Int J Rheum Dis.* 2012 Apr;15(2):179-82.
185. Teng, Dongling et al. “Significant increased CA199 levels in acute pancreatitis patients predicts the presence of pancreatic cancer.” *Oncotarget* vol. 9,16 12745-12753. 4 Jan. 2018.
186. Gold P, Freedman SO. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J Exp Med.* 1965 Sep 1;122(3):467-81.
187. Fukuda I, Yamakado M, Kiyose H. Influence of smoking on serum carcinoembryonic antigen levels in subjects who underwent multiphasic health testing and services. *J Med Syst.* 1998 Apr;22(2):89-93.
188. Martín-Pérez E, Fernández-Arjona M, Baza B, Villanueva C, Larrañaga E, Serrano PA, Clerigué A. Determinación del marcador tumoral CA 72-4 en el carcinoma gástrico [Determination of the tumor marker CA 72-4 in gastric carcinoma]. *Rev Esp Enferm Dig.* 1993 Feb;83(2):92-6. Spanish.
189. Shimada H., Noie T., Ohashi M., Oba K., Takahashi Y. Clinical significance of serum tumor markers for gastric cancer: A systematic review of literature by the Task Force of the Japanese Gastric Cancer Association. *Gastric Cancer.* 2014;17:26–33.
190. Hu, Ping-Jen et al. “Clinical Evaluation of CA72-4 for Screening Gastric Cancer in A Healthy Population: A Multicenter Retrospective Study.” *Cancers* vol. 11,5 733. 27 May. 2019.

191. Lowe JB, Stoolman LM, Nair RP, et al.: ELAM±1-dependent cell adhesion to vascular endothelium determined by a transfected human fucosyltransferase cDNA. *Cell* 1990;63:475±484.
192. Benchimol S, Fuks A, Jothy S, et al.: Carcinoembryonic antigen, a human tumor marker, functions as an intercellular adhesion molecule. *Cell* 1989;57:327±334.
193. Medoff JR, Jegasothy BV, Roche JK: Carcinoembryonic antigen-induced release of a suppressor factor from normal human lymphocytes in vitro. *Cancer Res* 1984; 44:5822±5827.
194. Victorzon M, Haglund C, Lundin J, et al.: A prognostic value of CA 19±9 but not of CEA in patients with gastric cancer. *Eur J Surg Oncol* 1995;21:379±384.
195. Kodera Y, Yamamura Y, Torii A, et al.: The prognostic value of preoperative serum levels of CEA and CA 19±9 in patients with gastric cancer. *Am J Gastroenterol* 1996;91:49±53.
196. Reiter W, Stieber P, Reuter C, et al.: Prognostic value of preoperative serum levels of CEA, CA 19-9 and CA 72-4 in gastric carcinoma. *Anticancer Res* 1997; 17:2903±2906.
197. Tachibana M, Takemoto Y, Nakashima Y, et al.: Serum carcinoembryonic antigen as a prognostic factor in resectable gastric cancer. *J Am Coll Surg* 1998;187:64±68.
198. Koga T, Kano T, Souda K, et al.: The clinical usefulness of preoperative CEA determination in gastric cancer. *Jpn J Surg* 1987;17:342±347.
199. Nakane Y, Okamura S, Akehira K, et al.: Correlation of preoperative carcinoembryonic antigen levels and prognosis of gastric cancer patients. *Cancer* 1994;73:2703±2708.
200. Lee EC, Yang JY, Lee KG, et al. The value of postoperative serum carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 levels for the early detection of gastric cancer recurrence after curative resection. *J Gastric Cancer*. 2014;14(4):221-228.
201. Guadagni F, Roselli M, Cosimelli M, et al.: Correlation between positive CA 72±4 serum levels and lymph node involvement in patients with gastric carcinoma. *Anticancer Res* 1993;13: 2409±2414.
202. Kodera Y, Yamamura Y, Torii A, et al.: The prognostic value of preoperative serum levels of CEA and CA 19±9 in patients with gastric cancer. *Am J Gastroenterol* 1996;91:49±53.

203. Shimizu N, Wakatsuki T, Murakami A, et al.: Carcinoembryonic antigen in gastric cancer patients. *Oncology* 1987;44:240±244.
204. Benchimol S, Fuks A, Jothy S, et al.: Carcinoembryonic antigen, a human tumor marker, functions as an intercellular adhesion molecule. *Cell* 1989;57:327±334
205. Spila A, Roselli M, Cosimelli M, et al. Clinical utility of CA 72-4 serum marker in the staging and immediate post-surgical management of gastric cancer patients. *Anticancer Res* 1996; 16: 2241-8
206. Wobbes T, Thomas CMG, Segers MFG, et al.: Evaluation of seven tumor markers (CA 50, CA 19-9, CA 19-9 TruQuant, CA 72-4, CA 195, carcinoembryonic antigen, and tissue polypeptide antigen) in the pretreatment sera of patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1992;69:2036±2041.
207. Victorzon M, Haglund C, Lundin J, et al.: A prognostic value of CA 19±9 but not of CEA in patients with gastric cancer. *Eur J Surg Oncol* 1995;21:379±384.
208. Maehara Y, Kusumoto T, Takahashi I, et al.: Predictive value of preoperative carcinoembryonic antigen levels for the prognosis of patients with well-differentiated gastric cancer: A multivariate analysis. *Oncology* 1994;51:234±237
209. Akahashi K, Matoba Y, Sakai N, Masuda M, Mori S. Comparison of serum assay for TAG-72, CA 19-9, and CEA in gastrointestinal carcinoma patients. *Jpn J Clin Oncol* 1989; 19: 242-8.
210. Safi F, Kuhns V, Beger HG. Comparison of CA 72-4, CA 19-9 and CEA in the diagnosis and monitoring of gastric cancer. *Int J Biol Markers* 1995; 10: 100-6.
211. Joypaul B, Browning M, Newman E, Byrne D, Cuschieri A, Comparison of serum CA 72-4 and CA 19-9 levels in gastric cancer patients and correlation with recurrence, *The American Journal of Surgery*, 2005;169: 595-599
212. Guadagni F, Roselli M, Amato T, et al. Tumor-associated glycoprotein-72 (TAG-72) serum levels complement carcinoembryonic antigen levels in monitoring patients with gastrointestinal carcinoma: A longitudinal study. *Cancer* 1991; 68: 2443-50.
213. Guadagni F, Roselli M, Amato T, et al. The CA 72-4 assay as a serum marker in the management of gastric carcinoma. *Cancer Res* 1992; 52: 1222-7.
214. Aloe S, D'Alessandro R, Spila A, Ferroni P, Basili S, Palmirota R, Carlini M, Graziano F, Mancini R, Mariotti S, Cosimelli M, Roselli M, Guadagni F. Prognostic value of serum

- and tumor tissue CA 72-4 content in gastric cancer. *Int J Biol Markers*. 2003 Jan-Mar;18(1):21-7.
215. Spila A, Roselli M, Cosimelli M, et al. Clinical utility of CA 72-4 serum marker in the staging and immediate post-surgical management of gastric cancer patients. *Anticancer Res* 1996; 16: 2241-8
216. Gonzalez A, Vizoso F, Allende MT, Sanchez MT, Balibrea JL, Ruibal A. Preoperative CEA and TAG-72 serum levels as prognostic indicators in resectable gastric carcinoma. *Int J Biol Markers* 1996; 11: 165-71.
217. Marrelli D, Roviello F, De Stefano A, et al. Prognostic significance of CEA, CA 19-9 and CA 72-4 preoperative serum levels in gastric carcinoma. *Oncology* 1999; 57: 55-62.
218. Gaspar MJ, Arribas I, Coca MC, Diez-Alonso M. Prognostic value of carcinoembryonic antigen, CA 19-9 and CA 72-4 in gastric carcinoma. *Tumor Biol* 2001; 22: 318-22.
219. PalN, Axisa B, Yusof S, et al. Volume and outcome for major upper GI surgery in England. *J Gastrointest Surg* 2008;12:353–7.
220. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965;64:31–49.
221. Roukos DH, Kappas AM. Perspectives in the treatment of gastric cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2005;2:98–107.
222. Rajdev L. Treatment options for surgically resectable gastric cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2010;11:14–23.
223. Allum WH, Blazeby JM, Griffin SM, et al. Association of upper gastrointestinal surgeons—guidelines for the management of oesophageal and gastric cancer. *Gut* 2011;60:1449–72.
224. Xu YY, Huang BJ, Sun Z, et al. Risk factors for lymph node metastasis and evaluation of reasonable surgery for early gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2007;13:5133–8.
225. Vasilescu C, Herlea V, Tidor S, et al. D2 lymph node dissection in gastric cancer surgery: long term results—analysis of an experience with 227 patients. *Chirurgia (Bucur)* 2006;101:375–84.

226. Songun I, Putter H, Kranenberg EM, et al. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow follow-up results of the randomized nationwide Dutch D1D2 trial. *Lancet Oncol* 2010;11:439–49.
227. Cho BC, Jeung HC, Choi HJ, et al. Prognostic impact of resection margin involvement after extended (D2/D3) gastrectomy for advanced gastric cancer: a 15-year experience at a single institute. *J Surg Oncol* 2007;95:461–8.
228. Yonemura Y, Wu CC, Fukushima N, et al. East Asia Surgical Oncology Group. Operative morbidity and mortality after D2 and D4 extended dissection for advanced gastric cancer: a prospective randomized trial conducted by Asian surgeons. *Hepatogastroenterology* 2006;53:389–94.
229. Sasako M, Sano T, Yamamoto S, et al. D2 lymphadenectomy alone or with para-aortic nodal dissection for gastric cancer. *N Engl J Med* 2008;359:453–62.
230. Gouzi JL, Huguier M, Fagniez PL, Launois B, Flamant Y, Lacaine F, Paquet JC, Hay JM. Total versus subtotal gastrectomy for adenocarcinoma of the gastric antrum. A French prospective controlled study. *Ann Surg.* 1989;209:162–166.
231. Bozzetti F, Marubini E, Bonfanti G, Miceli R, Piano C, Gennari L. Subtotal versus total gastrectomy for gastric cancer: five-year survival rates in a multicenter randomized Italian trial. Italian Gastrointestinal Tumor Study Group. *Ann Surg.* 1999;230:170–178.
232. Jang YJ, Park MS, Kim JH, Park SS, Park SH, Kim SJ, Kim CS, Mok YJ. Advanced gastric cancer in the middle one-third of the stomach: Should surgeons perform total gastrectomy? *J Surg Oncol.* 2010;101:451–456.
233. Lee JH, Kim YI. Which Is the Optimal Extent of Resection in Middle Third Gastric Cancer between Total Gastrectomy and Subtotal Gastrectomy? *J Gastric Cancer.* 2010;10:226–233.
234. Papachristou DN, Fortner JG. Local recurrence of gastric adenocarcinomas after gastrectomy. *J Surg Oncol.* 1981;18:47–53.
235. Morgagni P, Garcea D, Marrelli D, De Manzoni G, Natalini G, Kurihara H, Marchet A, Saragoni L, Scarpi E, Pedrazzani C, et al. Resection line involvement after gastric cancer surgery: clinical outcome in nonsurgically retreated patients. *World J Surg.* 2008;32:2661–2667.

236. Otsuji E, Yamaguchi T, Sawai K, et al.: Total gastrectomy with simultaneous pancreaticosplenectomy or splenectomy in patients with advanced gastric carcinoma. *Br J Cancer* 1999, 79:1789–1793.
237. Yu W, Choi G, Chung H: Randomized clinical trial of splenectomy versus splenic preservation in patients with proximal gastric cancer. *Br J Surg* 2006, 93:559–563.
238. Sasako M., K.Mafune. Surgery for Advanced Gastric Cancer. In: *The Diversity of Gastric Carcinoma. Pathogenesis, Diagnosis, and Therapy.* Under ed. Kaminishi M., K. Takubo, K.Mafune. Publ. by Springer-Verlag Tokyo, 2005, 272-285.
239. Shchepotin I, Chorny V, Nauta R, et al.: Extended surgical resection in T4 gastric cancer. *Am J Surg* 1998, 175:123–126.
240. Martin R, Jaques D, Brennan M, et al.: Extended local resection for advanced gastric cancer: increased survival versus increased morbidity. *Ann Surg* 2002, 236:159–165.
241. Martin, A. N., Das, D., Turrentine, F. E., Bauer, T. W., Adams, R. B., & Zaydfudim, V. M. (2016). Morbidity and Mortality After Gastrectomy: Identification of Modifiable Risk Factors. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*, 20(9), 1554–1564.
242. Martin RC 2nd, Jaques DP, Brennan MF, Karpeh M. Extended local resection for advanced gastric cancer: increased survival versus increased morbidity. *Ann Surg.* 2002;236(2):159-165.
243. Miner T, Jaques D, Shriver C: A prospective evaluation of patients undergoing surgery for the palliation of an advanced malignancy. *Ann Surg Oncol* 2002, 9:696–703.
244. Miner T: Palliative surgery for advanced cancer. Lessons learned in patient selection and outcome assessment. *Am J Clin Oncol* 2005, 28:411–414.
245. Miner T, Brennan M, Jaques D: A prospective, symptom related, outcomes analysis of 1022 palliative procedures for advanced cancer. *Ann Surg* 2004, 240:719–727.
246. Miner T, Jaques D, Karpeh M, et al.: Defining palliative surgery in patients receiving noncurative resections for gastric cancer. *J Am Coll Surg* 2004, 198:1013–1021.
247. Hartgrink H, Putter H, Kranenbarg E, et al.: Value of palliative resection in gastric cancer. *Br J Surg* 2002, 89:1438–1443.
248. Gretschel S, Siegel R, Estevez-Schwarz L, et al.: Surgical strategies for gastric cancer with synchronous peritoneal carcinomatosis. *Br J Surg* 2006, 93:1530–1535.

249. Kim D, Joo J, Seo K, et al.: T4 gastric carcinoma: the benefit of non-curative resection. *ANZ J Surg* 2006, 76:453–457.
250. Kitano S, Iso Y, Moriyama M, Sugimachi K. Laparoscopy-assisted Billroth I gastrectomy. *Surg Laparosc Endosc.* 1994;4:146–148.
251. Carboni F, Lepiane P, Santoro R, Mancini P, Lorusso R, Santoro E. Laparoscopic surgery for gastric cancer: preliminary experience. *Gastric Cancer.* 2005;8:75–77.
252. Kitano S, Shiraishi N, Uyama I, Sugihara K, Tanigawa N. A multicenter study on oncologic outcome of laparoscopic gastrectomy for early cancer in Japan. *Ann Surg.* 2007;245:68–72.
253. Kim KH, Kim MC, Jung GJ, Kim HH. Long-term outcomes and feasibility with laparoscopy-assisted gastrectomy for gastric cancer. *J Gastric Cancer.* 2012;12:18–25.
254. Park do J, Han SU, Hyung WJ, Kim MC, Kim W, Ryu SY, Ryu SW, Song KY, Lee HJ, Cho GS, et al. Long-term outcomes after laparoscopy-assisted gastrectomy for advanced gastric cancer: a large-scale multicenter retrospective study. *Surg Endosc.* 2012;26:1548–1553.
255. Song J, Lee HJ, Cho GS, Han SU, Kim MC, Ryu SW, Kim W, Song KY, Kim HH, Hyung WJ. Recurrence following laparoscopy-assisted gastrectomy for gastric cancer: a multicenter retrospective analysis of 1,417 patients. *Ann Surg Oncol.* 2010;17:1777–1786.
256. Quan, Y., Huang, A., Ye, M. et al. Comparison of laparoscopic versus open gastrectomy for advanced gastric cancer: an updated meta-analysis. *Gastric Cancer* 19, 939–950 (2016).
257. Kim HH, Hyung WJ, Cho GS, Kim MC, Han SU, Kim W, Ryu SW, Lee HJ, Song KY. Morbidity and mortality of laparoscopic gastrectomy versus open gastrectomy for gastric cancer: an interim report--a phase III multicenter, prospective, randomized Trial (KLASS Trial) *Ann Surg.* 2010;251:417–420.
258. Pugliese R, Maggioni D, Sansonna F, Costanzi A, Ferrari GC, Di Lernia S, Magistro C, De Martini P, Pugliese F. Subtotal gastrectomy with D2 dissection by minimally invasive surgery for distal adenocarcinoma of the stomach: results and 5-year survival. *Surg Endosc.* 2010;24:2594–2602.

259. Song J, Oh SJ, Kang WH, Hyung WJ, Choi SH, Noh SH. Robot-assisted gastrectomy with lymph node dissection for gastric cancer: lessons learned from an initial 100 consecutive procedures. *Ann Surg.* 2009;249:927–932.
260. Zeng YK, Yang ZL, Peng JS, Lin HS, Cai L. Laparoscopy-assisted versus open distal gastrectomy for early gastric cancer: evidence from randomized and nonrandomized clinical trials. *Ann Surg.* 2012;256:39–52.
261. Ballesta-Lopez C, Bastida-Vila X, Catarci M, Mato R, Ruggiero R (1996) Laparoscopic Billroth II subtotal gastrectomy with gastric stump suspension for gastric malignancies. *Am J Surg* 171: 289–292.
262. Goh P, Khan AZ, So JBY, Lomanto D, Wei-Keat C, Muthiah R, Gandhi A (2001) Early experience with laparoscopic radical gastrectomy for advanced cancer. *Surg Laparosc Endosc* 11: 83– 87.
263. Weber, K.J. & Reyes, C.D. & Gagner, Michel & Divino, C.M.. (2003). Comparison of laparoscopic and open gastrectomy for malignant disease. *Surgical endoscopy.* 17. 968-71. 10.1007/s00464-002-8738-5.
264. Joo I, Lee JM, Kim JH, Shin CI, Han JK, Choi BI. Prospective comparison of 3T MRI with diffusion-weighted imaging and MDCT for the preoperative TNM staging of gastric cancer. *J Magn Reson Imaging.* 2015;41:814–821.
265. Fukagawa T. Role of staging laparoscopy for gastric cancer patients. *Ann Gastroenterol Surg.* 2019;3(5):496-505.
266. Boku T, Nakane Y, Minoura T, Takada H, Yamamura M, Hioki K, et al. Prognostic significance of serosal invasion and free intraperitoneal cancer cells in gastric cancer. *Br J Surg* 1990;77:436– 9.
267. Kodera Y, Yamamura Y, Shimizu Y, Torii A, Hirai T, Yasui K, et al. Peritoneal washing cytology: prognostic value of positive findings in patients with gastric carcinoma undergoing a potentially curative resection. *J Surg Oncol* 1999;72:60–5.
268. Bonenkamp JJ, Songun I, Hermans J, van de Velde CJH. Prognostic value of positive cytology findings from abdominal washings in patients with gastric cancer. *Br J Surg* 1996;83: 1672–4.

269. van Dijkum EJM, Sturm PD, de Wit LT, Offerhaus J, Obertop H, Gouma DJ. Cytology of peritoneal lavage performed during staging laparoscopy for gastrointestinal malignancies: is it useful? *Ann Surg* 1998;228:728–33.
270. Sotiropoulos GC, Kaiser GM, Lang H, Treckmann J, Brokalaki EI, Pottgen C, et al. Staging laparoscopy in gastric cancer. *Eur J Med Res* 2005;10:88–91.
271. Wilke H, Preusser P, Flink U, Gunzer U, Meyer HJ, Meyer J, et al. Preoperative chemotherapy in locally advanced and nonresectable gastric cancer: a phase II study with etoposide, doxorubicin and cisplatin. *J Clin Oncol*. 1989;7:1318–26.
272. Lowy Am, Mansfield PF, Leach SD, Pazdur R, Dumas P, Ajani JA. Response to neoadjuvant chemotherapy best predicts survival after curative resection of gastric cancer. *Ann Surg* 1999;229:303–8.
273. Nashimoto A, Yabusaki H, Tanaka O, Sasaki J, Akiyama N. Neoadjuvant chemotherapy in advanced gastric cancer with noncurative factors: a phase II study with 5-fluorouracil, leucovorin and cisplatin. *Gastric Cancer* 1999;2:57–63.
274. Q. Wu, F. A. Merchant, and K. R. Castleman, Eds., *Microscope Image Processing*, Academic Press, New York, NY, USA, 2008.
275. M. Choi, K. Choi, S.-W. Ryu, J. Lee, and C. Choi, “Dynamic fluorescence imaging for multiparametric measurement of tumor vasculature,” *Journal of Biomedical Optics*, vol. 16, no. 4, Article ID 046008, 2011.
276. E. M. Sevick-Muraca, J. P. Houston, and M. Gurfinkel, “Fluorescence-enhanced, near infrared diagnostic imaging with contrast agents,” *Current Opinion in Chemical Biology*, vol. 6, no. 5, pp. 642–650, 2002.
277. Hachisu T, Miyazaki S, Hamaguchi K. Endoscopic clip-marking of lesions using the newly developed HX-3L clip. *Surg Endosc*. 1989;3(3):142–7.
278. Kojima F, Sato T, Tsunoda S, Takahata H, Hamaji M, Komatsu T et al. Development of a novel marking system for laparoscopic gastrectomy using endoclips with radio frequency identification tags: feasibility study in a canine model. *Surg Endosc*. 2014;28(9):2752–9.
279. Ohdaira T, Nagai H, Shibusawa H. Intraoperative localization of early-stage gastrointestinal tumors using a marking clip detector system. *Surgical Technology International*. 2005;14:79–83.

280. Matsuda T, Iwasaki T, Hirata K, Tsugawa D, Sugita Y, Ishida S et al. Simple and reliable method for tumor localization during totally laparoscopic gastrectomy: intraoperative laparoscopic ultrasonography combined with tattooing. *Gastric Cancer*. 2017;20(3):548–52.
281. Qi XD. [Gastrosopic mucosal biopsy and carbon ink injection marking for determination of resection line on the gastric wall in stomach cancer]. *Zhonghua zhong liu za zhi [Chinese Journal of Oncology]*. 1989;11(2):136–8
282. Tokuhara T, Nakata E, Tenjo T, Kawai I, Satoi S, Inoue K et al. A novel option for preoperative endoscopic marking with India ink in totally laparoscopic distal gastrectomy for gastric cancer: a useful technique considering the morphological characteristics of the stomach. *Molecular and clinical oncology*. 2017;6(4):483–6.
283. Park SI, Genta RS, Romeo DP, Weesner RE. Colonic abscess and focal peritonitis secondary to india ink tattooing of the colon. *Gastrointestinal endoscopy*. 1991;37(1):68–71.
284. Singh S, Arif A, Fox C, Basnyat P. Complication after pre-operative India ink tattooing in a colonic lesion. *Digestive Surgery*. 2006;23(5–6):303.
285. Chung JW, Seo KW, Jung K, Park MI, Kim SE, Park SJ et al. A promising method for tumor localization during total laparoscopic distal gastrectomy: preoperative endoscopic clipping based on negative biopsy and selective intraoperative radiography findings. *Journal of Gastric Cancer*. 2017;17(3):220–7.
286. Daskalaki D, Fernandes E, Wang X, Bianco FM, Elli EF, Ayloo S et al. Indocyanine green (ICG) fluorescent cholangiography during robotic cholecystectomy: results of 184 consecutive cases in a single institution. *Surgical Innovation*. 2014;21(6):615–21.
287. Spinoglio G, Piora F, Bianchi PP, Lucido FS, Licciardello A, Maglione V et al. Real-time near-infrared (NIR) fluorescent cholangiography in single-site robotic cholecystectomy (SSRC): a single-institutional prospective study. *Surg Endosc*. 2013;27(6): 2156–62.
288. Luo S, Zhang E, Su Y, Cheng T, Shi C. A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging. *Biomaterials*. 2011;32(29):7127–38.
289. Namikawa T, Sato T, Hanazaki K. Recent advances in near-infrared fluorescence-guided imaging surgery using indocyanine green. *Surg Today*. 2015;45(12):1467–74.

290. Alander JT, Kaartinen I, Laakso A, Patila T, Spillmann T, Tuchin VV et al. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *International Journal of Biomedical Imaging*. 2012;2012: 940585.
291. Goto O, Takeuchi H, Kawakubo H, Matsuda S, Kato F, Sasaki M et al. Feasibility of non-exposed endoscopic wall-inversion surgery with sentinel node basin dissection as a new surgical method for early gastric cancer: a porcine survival study. *Gastric Cancer*. 2015;18(2):440–5.
292. Kim M, Son SY, Cui LH, Shin HJ, Hur H, Han SU. Real-time Vessel Navigation Using Indocyanine Green Fluorescence during Robotic or Laparoscopic Gastrectomy for Gastric Cancer. *Journal of Gastric Cancer*. 2017;17(2):145–53.
293. Tajima Y, Murakami M, Yamazaki K, Masuda Y, Kato M, Sato A et al. Sentinel node mapping guided by indocyanine green fluorescence imaging during laparoscopic surgery in gastric cancer. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(7):1787–93.
294. Takahashi N, Nimura H, Fujita T, Mitsumori N, Shiraishi N, Kitano S et al. Laparoscopic sentinel node navigation surgery for early gastric cancer: a prospective multicenter trial. *Langenbecks Arch Surg*. 2017;402(1):27–32.
295. Yano K, Nimura H, Mitsumori N, Takahashi N, Kashiwagi H, Yanaga K. The efficiency of micrometastasis by sentinel node navigation surgery using indocyanine green and infrared ray laparoscopy system for gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2012;15(3):287–91.
296. Squires MH, 3rd, Kooby DA, Pawlik TM, Weber SM, Poultsides G, Schmidt C et al. Utility of the proximal margin frozen section for resection of gastric adenocarcinoma: a 7-Institution Study of the US Gastric Cancer Collaborative. *Ann Surg Oncol*. 2014;21(13):4202–10.
297. Kim MG, Lee JH, Ha TK, Kwon SJ. The distance of proximal resection margin does not significantly influence on the prognosis of gastric cancer patients after curative resection. *Annals of Surgical Treatment and Research*. 2014;87(5):223–31.
298. Bissolati M, Desio M, Rosa F, Rausei S, Marrelli D, Baiocchi GL et al. Risk factor analysis for involvement of resection margins in gastric and esophagogastric junction cancer: an Italian multicenter study. *Gastric Cancer*. 2017;20(1):70–82.

299. Tajima Y, Yamazaki K, Masuda Y, Kato M, Yasuda D, Aoki T, Kato T, Murakami M, Miwa M, Kusano M. Sentinel node mapping guided by indocyanine green fluorescence imaging in gastric cancer. *Ann Surg*. 2009 Jan;249(1):58-62
300. Antoch G, Vogt FM, Freudenberg LS, et al. Whole-body dual-modality PET/CT and whole-body MRI for tumor staging in oncology. *JAMA* 2003;290(24):3199–206.
301. Giuliano AE, Jones RC, Brennan M, Statman R. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1997;15(6):2345–50.
302. Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127(4):392–9.
303. Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127(4):392–9
304. Kim MC, Kim HH, Jung GJ, et al. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy using <sup>99m</sup>Tc tin colloid in gastric cancer. *Ann Surg* 2004;239(3):383–7.
305. Kitagawa Y, Saikawa Y, Takeuchi H, et al. Sentinel node navigation in early stage gastric cancer updated data and current status. *Scand J Surg* 2006;95(4):256–9.
306. Lee JH, Ryu KW, Nam BH, et al. Factors associated with detection failure and false-negative sentinel node biopsy findings in gastric cancer: results of prospective single center trials. *J Surg Oncol* 2009;99 (3):137–42.
307. Miyashiro I, Miyoshi N, Hiratsuka M, et al. Detection of sentinel node in gastric cancer surgery by indocyanine green fluorescence imaging: comparison with infrared imaging. *Ann Surg Oncol* 2008;15(6):1640–3.
308. Nimura H, Narimiya N, Mitsumori N, Yamazaki Y, Yanaga K, Urashima M. Infrared ray electronic endoscopy combined with indocyanine green injection for detection of sentinel nodes of patients with gastric cancer. *Br J Surg* 2004;91(5):575–9.
309. Ohdaira H, Nimura H, Mitsumori N, Takahashi N, Kashiwagi H, Yanaga K. Validity of modified gastrectomy combined with sentinel node navigation surgery for early gastric cancer. *Gastric Cancer* 2007;10(2):117–22.
310. Park DJ, Lee HJ, Lee HS, et al. Sentinel node biopsy for CT1 and CT2a gastric cancer. *Eur J Surg Oncol* 2006;32(1):48–54.
311. Tajima Y, Yamazaki K, Masuda Y, et al. Sentinel node mapping guided by indocyanine green fluorescence imaging in gastric cancer. *Ann Surg* 2009;249(1):58–62.

312. Miwa K, Kinami S, Taniguchi K, Fushida S, Fujimura T, Nonomura A. Mapping sentinel nodes in patients with early-stage gastric carcinoma. *Br J Surg* 2003;90(2):178–82.
313. Ohdaira H, Nimura H, Fujita T, et al. Tailoring treatment for early gastric cancer after endoscopic resection using sentinel node navigation with infrared ray electronic endoscopy combined with indocyanine green injection. *Dig Surg* 2009;26(4):276–81.
314. Lee YJ, Ha WS, Park ST, Choi SK, Hong SC, Park JW. Which biopsy method is more suitable between a basin dissection and pick-up biopsy for sentinel nodes in Laparoscopic Sentinel-Node Navigation Surgery (LSNNS) for gastric cancer? *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2008; 18(3):357–63.
315. Xiaofeng Lu, Song Liu, Xuefeng Xia et al. The Short-term and Long-term Outcomes of Indocyanine Green Tracer-Guided Laparoscopic Radical Gastrectomy in Patients with Gastric Cancer, 13 November 2020, PREPRINT (Version 1) available at Research Square.
316. Vahrmeijer AL, Hutteman M, van der Vorst JR, van de Velde CJH, Frangioni JV. Image-guided cancer surgery using near-infrared fluorescence. *Nat Rev Clin Oncol* 2013;10:507-18.
317. Yano K, Nimura H, Mitsumori N, Takahashi N, Kashiwagi H, Yanaga K. The efficiency of micrometastasis by sentinel node navigation surgery using indocyanine green and infrared ray laparoscopy system for gastric cancer. *Gastric Cancer* 2012;15:287-91.
318. Tajima Y, Murakami M, Yamazaki K, et al. Sentinel Node Mapping Guided by Indocyanine Green Fluorescence Imaging During Laparoscopic Surgery in Gastric Cancer. *Annals of Surgical Oncology* 2010;17:1787-93.
319. Smith DD, Schwarz RR, Schwarz RE. Impact of total lymph node count on staging and survival after gastrectomy for gastric cancer: Data from a large US-population database. *Journal of Clinical Oncology* 2005;23:7114-24.
320. Kong SH, Lee HJ, Ahn HS, et al. Stage Migration Effect on Survival in Gastric Cancer Surgery With Extended Lymphadenectomy The Reappraisal of Positive Lymph Node Ratio as a Proper N-Staging. *Ann Surg* 2012;255:50-8.
321. Lan YT, Huang KH, Chen PH, et al. A pilot study of lymph node mapping with indocyanine green in robotic gastrectomy for gastric cancer. *SAGE Open Med* 2017;5:8.

322. Kwon IG, Son T, Kim HI, Hyung WJ. Fluorescent Lymphography-Guided Lymphadenectomy During Robotic Radical Gastrectomy for Gastric Cancer. *Jama Surgery* 2019;154:150-8.
323. Kim TH, Kong SH, Park JH, et al. Assessment of the Completeness of Lymph Node Dissection Using Near-infrared Imaging with Indocyanine Green in Laparoscopic Gastrectomy for Gastric Cancer. *J Gastric Cancer* 2018;18:161-71.
324. Chen QY, Xie JW, Zhong Q, et al. Safety and Efficacy of Indocyanine Green Tracer-Guided Lymph Node Dissection During Laparoscopic Radical Gastrectomy in Patients With Gastric Cancer A Randomized Clinical Trial. *Jama Surgery* 2020;155:300-11.
325. Tajima Y, Yamazaki K, Masuda Y, et al. Sentinel Node Mapping Guided by Indocyanine Green Fluorescence Imaging in Gastric Cancer. *Ann Surg* 2009;249:58-62.
326. Narimiya G T, Yanagisawa A, Sasako M, Ono H, Nakanishi Y, Shimoda T, Kato Y (2000) Incidence of lymph node metastasis from early gastric cancer: estimation with a large number of cases at two large centers. *Gastric Cancer* 3: 219–225
327. Romanzi A, Mancini R, Ioni L, Picconi T, Pernazza G. ICG-NIR-guided lymph node dissection during robotic subtotal gastrectomy for gastric cancer. A single-centre experience. *Int J Med Robot.* 2021 Apr;17(2):e2213.
328. Narimiya N, Nimura H, Fujisaki J, Arakawa H, Isshi K, Tajiri H (2003) Observation of sentinel lymph nodes using an infrared ray electronic endoscopic system (in Japanese with English abstract). *Gastroenterol Endosc* 45: 2338–2345.
329. C. K. Roh, S. Choi, W. J. Seo, M. Cho, T. Son, H.-I. Kim, W. J. Hyung, Indocyanine green fluorescence lymphography during gastrectomy after initial endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer, 2020;107.
330. Hiratsuka M, Miyashiro I, Ishikawa O, Furukawa H, Motomura K, Ohigashi H, Kameyama M, Sasaki Y, Kabuto T, Ishiguro S, Imaoka S, Koyama H (2001) Application of sentinel node biopsy to gastric cancer surgery. *Surgery* 129: 335–340.
331. Lan YT, Huang KH, Chen PH, et al. A pilot study of lymph node mapping with indocyanine green in robotic gastrectomy for gastric cancer. *SAGE Open Med* 2017;5:8.
332. Kitano S, Shiraishi N, Fujii K, Yasuda K, Inomata M, Adachi Y. A randomized-controlled trial comparing open vs laparoscopy-assisted distal gastrectomy for the treatment of early gastric cancer: an interim report. *Surgery.* 2002;131

333. Hayashi H, Ochiai T, Shimada H, Gunji Y. Prospective randomized study of open versus laparoscopy-assisted distal gastrectomy with extraperigastric lymph node dissection for early gastric cancer. *Surg Endosc.* 2005;19(9):1172–1176.
334. Kajitani T. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. Part I. Clinical classification. *Japanese Journal of Surgery.* 1981;11(2):127–139.
335. Bonenkamp J, Songun I, Hermans J, et al. Randomised comparison of morbidity after D1 and D2 dissection for gastric cancer in 996 Dutch patients. *The Lancet.* 1995;345(8952):745–748.
336. Cuschieri A, Fayers P, Fielding J, et al. Postoperative morbidity and mortality after D1 and D2 resections for gastric cancer: preliminary results of the MRC randomised controlled surgical trial. *The Lancet.* 1996;347(9007):995–999.
337. Biffi R, Chiappa A, Luca F, et al. Extended lymph node dissection without routine spleno-pancreatectomy for treatment of gastric cancer: low morbidity and mortality rates in a single center series of 250 patients. *Journal of Surgical Oncology.* 2006;93(5):394–400.
338. Maruyama K, Sasako M, Kinoshita T, et al. Should systematic lymph node dissection be recommended for gastric cancer? *European Journal of Cancer.* 1998;34(10):1480–1489.
339. Sasako M., K.Mafune. Surgery for Advanced Gastric Cancer. In: *The Diversity of Gastric Carcinoma. Pathogenesis, Diagnosis, and Therapy.* Under ed. Kaminishi M., K. Takubo, K.Mafune. Publ. by Springer-Werlag Tokyo, 2005, 272-285.
340. Practice Guidelines in Oncology. National Comprehensive Cancer Network (NCCN), 2007, v. 2, 1-27.
341. Hartgrink H.H., C.J.H. van de Velde, H. Putter, J.J. Bonenkamp. Extended Lymph Node Dissection for Gastric Cancer: Who May Benefit? Final Results of the Randomized Dutch Gastric Cancer Group Trial. *Journal of Clinical Oncology,* 2004, 22, 11, 2069-2077.
342. Sano T, M. Sasako, S. Yamamoto et al. Gastric Cancer Surgery: Morbidity and Mortality Results From a Prospective Randomized Controlled Trial Comparing D2 and Extended Para-Aortic Lymphadenectomy—Japan Clinical Oncology Group Study 9501. *Journal of Clinical Oncology,* 2004, 22,14, 2767-2773.

343. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese Classification of Gastric Carcinoma. 2nd English ed. *Gastric Cancer* 1998, 1,10–24.
344. Karpeh M. S., D.P. Kelsen, J.E. Tepper. Cancer of the stomach, In: *Cancer: Principles and Practice of Oncology* 6th ed., Under edit. T. DeVita, S. Hellman, S. A. Rosenberg, Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2001, 2123-2189.
345. Hartgrink H.H., C.J.H. van de Velde, H. Putter, J.J. Bonenkamp. Extended Lymph Node Dissection for Gastric Cancer: Who May Benefit? Final Results of the Randomized Dutch Gastric Cancer Group Trial. *Journal of Clinical Oncology*, 2004, 22, 11, 2069-2077.
346. Fujii M, Sasaki J, Nakajima T: State of the art in the treatment of gastric cancer: From the 71st Japanese Gastric Cancer Congress. *Gastric Cancer* 2:151-157, 1999
347. Sano T, Katai H, Sasako M, et al: One thousand consecutive gastrectomies without operative mortality. *Br J Surg* 89:123, 2002.
348. Siewert JR, Bottcher K, Stein HJ, et al (1998) Relevant prognostic factors in gastric cancer: ten-year results of the German Gastric Cancer Study. *Ann Surg* 228:449–461
349. Wanebo HJ, Kennedy BJ, Chmiel J, Steele G, Winchester D, Osteen R: Cancer of the stomach. A patient care study by the American College of Surgeons. *Ann Surg.* 1993, 218 (5): 583-592.
350. Stein HJ, Sendler A, Siewert JR: Site-dependent resection techniques for gastric cancer. *Surg Oncol Clin N Am.* 2002, 11 (2): 405-414.
351. Roder JD, Bottcher K, Siewert JR, Busch R, Hermanek P, Meyer HJ. Prognostic factors in gastric carcinoma: results of the German Gastric Carcinoma Study 1992. *Cancer.* 1993; 72: 2089–2097.
352. Aitini E, Rabbi C, Mambrini A, Cavazzini G, Pari F, Zamagni D, Cantore M, Pagani M, Sorio M, Lusenti A, Adami F, Smerieri F. Epirubicin, cisplatin and continuous infusion 5-fluorouracil (ECF) in locally advanced or metastatic gastric cancer: a single institution experience. *Tumori.* 2001 Jan-Feb;87(1):20-4.
353. Elizabeth C., Matteo F., David C., William H., Alicia F., Effect of Pathologic Tumor Response and Nodal Status on Survival in the Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy Trial, *Journal of Clinical Oncology* 2016 34:23, 2721-2727.

354. The principles of the surgical management of gastric cancer Elroy P. Weledji, BSc (Hons) Lond, MSc (Lond), MBBchBAO (Ireland), FRCS (Edin) *International Journal of Surgery Oncology* (2017) 2:e11
355. Shchepotin IB, Evans SR, Chorny VA, Shabahang M, Buras RR, Nauta RJ: Postoperative complications requiring relaparotomies after 700 gastrectomies performed for gastric cancer. *Am J Surg.* 1996, 171 (2)
356. Sasako M: Risk factors for surgical treatment in the Dutch Gastric Cancer Trial. *Br J Surg.* 1997, 84 (11): 1567-1571.
357. Grossmann EM, Longo WE, Virgo KS, Johnson FE, Oprian CA, Henderson W, Daley J, Khuri SF: Morbidity and mortality of gastrectomy for cancer in Department of Veterans Affairs Medical Centers. *Surgery.* 2002, 131 (5).
358. Bonenkamp JJ, Songun I, Hermans J, Sasako M, Welvaart K, Plukker JT, van Elk P, Obertop H, Gouma DJ, Taat CW: Randomised comparison of morbidity after D1 and D2 dissection for gastric cancer in 996 Dutch patients. *Lancet.* 1995, 345 (8952): 745-748.
359. Crookes P, Leichman CG, Leichman L, Tan M, Laine L, Stain S, Baranda J, Casagrande Y, Groshen S, Silberman H: Systemic chemotherapy for gastric carcinoma followed by postoperative intraperitoneal therapy: a final report. *Cancer.* 1997, 79 (9)
360. Zhang S, Yan D, Sun Q, et al. FLOT Neoadjuvant Chemotherapy Followed by Laparoscopic D2 Gastrectomy in the Treatment of Locally Resectable Advanced Gastric Cancer. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2020;2020:1702823. Published 2020 May 29.
361. Muro K, Van Cutsem E, Narita Y, Pentheroudakis G, Baba E, Douillard JY. Pan-Asian adapted ESMO Clinical Practice Guidelines for the management of patients with metastatic gastric cancer: a JSMO-ESMO initiative endorsed by CSCO, KSMO, MOS, SSO and TOS. *Ann Oncol.* 2019 Jan 1;30(1):19-33.
362. Shun Zhang, Dongyi Yan, Qi Sun, Tao Du, Dongliang Cao, Yao Yang, Biao Yuan, Haiqiang Li, Xiaohua Jiang, Chun Song, "FLOT Neoadjuvant Chemotherapy Followed by Laparoscopic D2 Gastrectomy in the Treatment of Locally Resectable Advanced Gastric Cancer", *Canadian Journal of Gastroenterology and*
363. Cunningham D, Allum DH, Stenning SP. Perioperative chemotherapy in operable gastric and lower oesophageal cancer: final results of a randomised, controlled trial (the MAGIC trial, ISRCTN 93793971) *J Clin Oncol.* 2005;23:308s

364. Perez C, Brady LW, Halperin EC. Principles and Practice of Radiation Oncology. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2004
365. Zhang ZX, Gu XZ, Yin WB, Huang GJ, Zhang DW, Zhang RG. Randomized clinical trial on the combination of preoperative irradiation and surgery in the treatment of adenocarcinoma of gastric cardia (AGC)--report on 370 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1998;42:929–934.
366. Wieland C, Hymmen U. [Mega-volt therapy of malignant stomach neoplasms] *Strahlentherapie.* 1970;140:20–26.
367. Takahashi M, Abe M. Intra-operative radiotherapy for carcinoma of the stomach. *Eur J Surg Oncol.* 1986;12:247–250.
368. Bonenkamp JJ, Hermans J, Sasako M, van de Velde CJ, Welvaart K, Songun I, Meyer S, Plukker JT, Van Elk P, Obertop H, et al. Extended lymph-node dissection for gastric cancer. *N Engl J Med.* 1999;340:908–914.
369. Koga S, Kawaguchi H, Kishimoto H: Therapeutic significance of noncurative gastrectomy for gastric cancer with liver metastasis. *Am J Surg.* 1980, 140: 356-359.
370. Tahara E. Genetic pathways of two types of gastric cancer. IARC Scientific Publications. 2004 (157):327-349.
371. Sulahian, R., Casey, F., Shen, J. et al. An integrative analysis reveals functional targets of GATA6 transcriptional regulation in gastric cancer. *Oncogene* 33, 5637–5648 (2014).
372. Tadesse S, Yu M, Kumarasiri M, Targeting CDK6 in cancer: State of the art and new insights, *Cell Cycle*,2015, (14:20) 3220-3230.
373. Akiyama Y, Watkins N, Suzuki H, Jair KW, van Engeland M et al. GATA-4 and GATA-5 transcription factor genes and potential downstream antitumor target genes are epigenetically silenced in colorectal and gastric cancer. *Mol Cell Biol.* 2003;23:8429–8439.
374. Liang Xie, Xinying Su, Lin Zhang, Xiaolu Yin, Lili Tang et al. FGFR2 Gene Amplification in Gastric Cancer Predicts Sensitivity to the Selective FGFR Inhibitor AZD4547 *Clin Cancer Res.* 2013;19(9):2572-83.
375. Kokkola A, Monni O, Puolakkainen P, Larramendy ML, Victorzon M et al. 17q12–21 amplicon, a novel recurrent genetic change in intestinal type of gastric carcinoma: a

- comparative genomic hybridization study. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 20:38–43.
376. Ooi WF, Nargund AM, Lim KJ, et al. Integrated paired-end enhancer profiling and whole-genome sequencing reveals recurrent CCNE1 and IGF2 enhancer hijacking in primary gastric adenocarcinoma *Gut* 2020;69:1039-1052.
377. Kamiya S, Rouvelas I, Lindblad M, Nilsson M. Current trends in gastric cancer treatment in Europe. *J Cancer Metastasis Treat* 2018;4:35.
378. Inoue M, Tsugane S. Epidemiology of gastric cancer in Japan *Postgraduate Medical Journal* 2005;81:419-424.
379. Roder, D. The epidemiology of gastric cancer. *Gastric Cancer* 5, 5–11 (2002).
380. Pergola G, Silvestris F, "Obesity as a Major Risk Factor for Cancer", *Journal of Obesity* 2013; 29:1546,1-11.
381. SHIMURA, M. KITAGAWA, T. YAMADA, M. EBI. C-reactive Protein is a Potential Prognostic Factor for Metastatic Gastric Cancer *Anticancer Research* Feb 2012, 32 (2) 491-496.
382. Feldman M, Aziz B, Kang GN, Opondo MA, Belz RK, Sellers C. C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate discordance: frequency and causes in adults. *Transl Res* 2013;161:37-43.
383. Alao OO. Clinical utility of the erythrocyte sedimentation rate. *J Clin Med Res* 2010;2:119-124.
384. Todorovic M, Balint B, Jevtic M, Suvajdzic N, Ceric A, Stamatovic D, et al. Primary gastric mucosa associated lymphoid tissue lymphoma: clinical data predicted treatment outcome. *World J Gastroenterol* 2008;14:2388-2393.
385. Preston T, Slater C, McMillan DC, Falconer JS, Shenkin A, Fearon KC. Fibrinogen synthesis is elevated in fasting cancer patients with an acute phase response. *J Nutr.* 1998;128:1355–60.
386. Sheng L, Luo M, Sun X, Lin N, Mao W, Su D. Serum fibrinogen is an independent prognostic factor in operable nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer.* 2013;133:2720–5.
387. Lee SE, Lee JH, Ryu KW, Nam BH, Cho SJ, Lee JY, et al. Preoperative plasma fibrinogen level is a useful predictor of adjacent organ involvement in patients with advanced gastric cancer. *J Gastric Cancer.* 2012;12:81–7.

388. Lee JH, Ryu KW, Kim S, Bae JM. Preoperative plasma fibrinogen levels in gastric cancer patients correlate with extent of tumor. *Hepatogastroenterology*. 2004;51:1860–3.
389. Cidón, E.U., Bustamante, R. Gastric Cancer: Tumor Markers as Predictive Factors for Preoperative Staging. *J Gastrointest Canc* 42, 127–130 (2011).
390. Hwang GI, Yoo CH, Sohn BH, Shin JH, Park YL, et al. Predictive value of preoperative serum CEA, CA19-9 and CA125 levels for peritoneal metastasis in patients with gastric carcinoma. *Cancer Res Treat* 36: 178-181, 2004.
391. Xuechao Liu, Zhiming Wu, Enzi Lin, Wei Li, Yingbo Chen et al. Systemic prognostic score and nomogram based on inflammatory, nutritional and tumor markers predict cancer-specific survival in stage II–III gastric cancer patients with adjuvant chemotherapy. *Clinical Nutrition*, 1853-1860, 2019.
392. Wu, C. X. and Zhu, Z. H. (2014). Diagnosis and evaluation of gastric cancer by positron emission tomography. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 20, no. 16, pp. 4574–4585.
393. Dascălu, R.-I. et al. (2020). The Role of PET-CT in Gastric Cancer – A Narrative Review. *Sudan Journal of Medical Sciences (SJMS)*, 15(3), 332–344.
394. Ding J, Liao G, Yan Z, et al. Meta-analysis of proximal gastrectomy and total gastrectomy for cancer of cardia and fundus. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2011;36(6):570–5.
395. Ding J, Liao GQ, Liu HL, Liu S, Tang J. Meta-analysis of laparoscopy-assisted distal gastrectomy with D2 lymph node dissection for gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2012;105(3):297–303.
396. Basilar artery thrombectomy: assessment of outcome and identification of prognostic factors. *Acta Neurol Belg*. 2019.
397. Vu LN, Nghia NQ, Thanh DT, et al. Laparoscopic living donor right nephrectomy: assessment of outcome and association of BMI to length of right renal vein. *Actas Urol Esp*. 2019;43(10):536–42.
398. Kelly KJ, Selby L, Chou JF, Dukleska K, Capanu M, Coit DG, Brennan MF, Strong VE. Laparoscopic Versus Open Gastrectomy for Gastric Adenocarcinoma in the West: A Case-Control Study. *Ann Surg Oncol*. 2015 Oct;22(11):3590-6.

399. Beyer, K., Baukloh, AK., Kamphues, C. et al. Laparoscopic versus open gastrectomy for locally advanced gastric cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled studies. *World J Surg Onc* 17, 68 (2019).
400. Li Z, Zhao Y, Lian B, Liu Y, Zhao Q. Long-term oncological outcomes in laparoscopic versus open gastrectomy for advanced gastric cancer: A meta-analysis of high-quality nonrandomized studies. *Am J Surg*. 2019 Sep;218(3):631-638.
401. Cui M, Li Z, Xing J, Yao Z, prospective randomized clinical trial comparing D2 dissection in laparoscopic and open gastrectomy for gastric cancer. *Med Oncol*. 2015;32(10):241.
402. Park YK, Yoon HM, Kim YW, Park JY COACT Group Laparoscopy-Assisted versus Open D2 Distal Gastrectomy for Advanced Gastric Cancer: Results from a Randomized Phase II Multicenter Clinical Trial (COACT 1001) *Ann Surg*. 2017.