

Lek. Monika Olszewska

**Znaczenie rokownicze białek: Ki-67, E-kadheryny, HER2
i ERCC1 u chorych leczonych z powodu raka żołądka**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: prof. dr hab. n. med. Stanisław Głuszek

Klinika Chirurgii Onkologicznej
Świętokrzyskie Centrum Onkologii – Uniwersytet Jana Kochanowskiego
w Kielcach



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2020

Lek. Monika Olszewska

Znaczenie rokownicze białek: Ki-67, E-kadheryny, HER2 i ERCC1 u chorych leczonych z powodu raka żołądka

Wstęp

Rak żołądka jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym tego narządu. Zapadalność na raka żołądka maleje, ale mimo to jest on czwartym w kolejności zachorowalności i drugim pod względem przyczyny zgonów nowotworem na świecie. Najważniejszym czynnikiem prognostycznym jest stopień zaawansowania choroby, jednak u chorych z nowotworami w tym samym stopniu zaawansowania przebieg kliniczny nie jest jednakowy. Istnieje zatem potrzeba lepszej identyfikacji podtypów raka żołądka, biologicznych czynników prognostycznych i predykcyjnych, badań nad zastosowaniem terapii celowanych oraz indywidualizacji leczenia. Biomarkerami, których rola jest istotna, ale nie do końca poznana i wymagająca wielu badań są białka: Ki-67, E-kadheryna, HER2 i ERCC1.

Cel pracy

Celem badań była ocena poziomu ekspresji białek: Ki-67, E-kadheryny, HER2 i ERCC1 w materiałach pooperacyjnych, ocena ich zależności z czasem całkowitego przeżycia i czasem przeżycia wolnego od choroby oraz ustalenie znaczenia rokowniczego u chorych z rakiem żołądka.

Materiał i metody

Badania realizowano w Klinice Chirurgii Onkologicznej i Zakładzie Patologii Nowotworów Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach. Analizą retrospektywną objęto 136 chorych, w tym 96 mężczyzn i 40 kobiet, w wieku od 25 do 83 lat leczonych z powodu raka żołądka w latach 2001 – 2015 w Klinice Chirurgii Onkologicznej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii. Na podstawie analizowanej dokumentacji u żadnego z pacjentów nie stwierdzono rodzinnego występowania raka żołądka.

Ekspresję białek: Ki-67, E-kadheryny, HER2 i ERCC1 w preparatach pooperacyjnych oceniano metodami immunohistochemicznymi. Odczyny immunohistochemiczne oceniano metodą półilościową wykorzystując zmodyfikowany German Immunohistochemical Scoring System.

W opisie statystycznym cech ilościowych wykorzystano średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe, mediany, kwartyle oraz zakresy wartości (minimum i maksimum).

Rozkłady danych jakościowych opisywano za pomocą częstości i procentów. Częstości porównywano za pomocą testu chi-kwadrat lub dokładnego testu Fishera. Normalność rozkładów sprawdzano testem Shapiro-Wilka. Z powodu naruszenia założenia o normalności, rozkłady cech ciągłych porównywano za pomocą testu U Manna-Whitneya (w przypadku dwóch grup) lub testu Kruskalla-Wallisa (w przypadku więcej niż dwóch grup). W obliczeniach wykorzystano program R wersja 3.1.2 (R Core Team (2014)) oraz program STATISTICA (wersja 12).

Wyniki

Czas obserwacji wahał się od 3 do 199 miesięcy. W dniu 30.11.2017 r. żyło 63 (46,3%) spośród 136 analizowanych chorych. Wśród 73 chorych zmarłych w okresie obserwacji, 40 (54,8%) zmarło w czasie do 27 miesięcy włącznie, zaś pozostałych 33 przeżyło od 28 do 174 miesięcy. Zgony obserwowano z częstością 10,7%/rok. Wszyscy chorzy żyjący w dniu 30.11.2017 r. (n=63) przeżyli co najmniej 28 miesięcy od rozpoznania (od 28 do 199 miesięcy). Różnice istotne statystycznie wiązały się ze stopniem zaawansowania choroby oraz z poziomem ekspresji HER2. Wśród zmarłych do 27 miesiąca obserwowano wyłącznie przypadki HER2 o ekspresji równej 0, zaś przypadki HER2 powyżej zera notowano z częstością około 12-13% w dwóch pozostałych grupach chorych.

W analizowanej grupie chorych Ki-67 przyjęło 13 różnych wartości (od 1 do 80). Najczęściej występowała wartość równa 1 (32 chorych) oraz wartość 5 (25 chorych). Chorzy z bardzo niską (do 2), umiarkowanie niską (od 2 do 20), umiarkowanie wysoką (od 20 do 50) oraz wysoką (> 50) wartością Ki-67 nie różnili się statystycznie istotnie biorąc pod uwagę wiek i płeć, stopień zróżnicowania histologicznego, typ nowotworu wg Laurena, stopień zaawansowania klinicznego i patologicznego oraz zależność z poziomem ekspresji E-kadheryny i HER2. Stwierdzono natomiast istotną statystycznie zależność pomiędzy wartością Ki-67 a lokalizacją guza w trzonie żołądka oraz poziomem białka ERCC1.

Poziom ekspresji E-kadheryny prezentował wartość maksymalną (3+/100) u ponad 80% chorych. Zerową ekspresję tego białka stwierdzono u 8,8% badanych. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem E-kadheryny a wiekiem i płcią chorych, stopniem zaawansowania klinicznego i patologicznego oraz poziomem ekspresji Ki-67. Analiza wykazała istotną statystycznie zależność pomiędzy ekspresją białka E-kadheryny z stopniem złośliwości histologicznej i typem raka wg klasyfikacji Laurena oraz ekspresją białek HER2 i ERCC1.

W badanej grupie większość preparatów wykazywała zerową ekspresję białka HER2. Wartości inne niż 0 stwierdzono u 12 chorych (8,8% ogółu), w tym u 2 chorych była to wartość

1, a u 10 wartość 3. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem białka HER2 a płcią chorych, stopniem zaawansowania klinicznego i patologicznego oraz poziomem ekspresji E-kadheryny i ERCC1. Badania wykazały zależność bliską istotności statystycznej odnośnie do wieku chorych ($p=0.075$). Również bliska istotności statystycznej była zależność pomiędzy poziomem HER2 i Ki-67 ($p=0.058$). Analiza wykazała zależność istotną statystycznie pomiędzy ekspresją HER2 a stopniem złośliwości histologicznej oraz typem nowotworu wg klasyfikacji Laurena.

Brak ekspresji ERCC1 obserwowano u 9 chorych (6.6% ogółu). Maksymalną ekspresję (3+/100) zanotowano również u 9 chorych. Najczęściej obserwowano ekspresję na poziomie 2+/80 (23 chorych, 16.9%) oraz na poziomie 3+/90 (20 chorych, 14.7%). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem białka ERCC1 a płcią chorych, stopniem zaawansowania klinicznego i patologicznego, stopniem złośliwości histologicznej i typem nowotworu wg Laurena. Analizując korelację pomiędzy ekspresją ERCC1 a pozostałymi badanymi białkami nie obserwowano związku z poziomem ekspresji HER2, stwierdzono natomiast istotną statystycznie zależność z poziomem ekspresji E-kadheryny i Ki-67.

Długość czasu całkowitego przeżycia chorych była istotnie powiązana ze stopniem klinicznego ($p=0.0001$) i patologicznego ($p<0.0001$) zaawansowania choroby przy rozpoznaniu. Nie obserwowano statystycznie istotnych różnic w długości czasu całkowitego przeżycia w zależności od poziomu ekspresji białek: Ki-67, E-kadheryny, HER2 i ERCC1. Stwierdzono jednak, że nieistotnie lepsze przeżycie mieli chorzy z $HER2 > 0$.

Według stanu na 30.11.2017 r. nawrót choroby przed zgonem stwierdzono u 29 (21,3%) spośród 136 analizowanych chorych. Wszyscy chorzy z nawrotem choroby zmarli w czasie od 16 do 1760 dni po jego zdiagnozowaniu, przy czym ponad 12 miesięcy przeżyło 8 chorych (27.6% chorych z nawrotem). Zdarzenie „nawrót choroby lub zgon” notowano z częstością 11.4%/rok (73 zdarzenia na ogólną sumę 7651 miesięcy obserwacji). Grupa chorych z nawrotem ($n=29$) różniła się statystycznie istotnie wiekiem przy rozpoznaniu choroby oraz przyczyną zgonu od chorych zmarłych, ale bez stwierdzonego przed zgonem nawrotu ($n=44$); ponadto obserwowano tendencję ($p=0.11$) do nawrotu w przypadku lokalizacji guza we wpuszcie lub okolicy podwpustowej. Długość czasu przeżycia wolnego od choroby była istotnie powiązana ze stopniem klinicznego ($p=0.0002$) i patologicznego ($p=0.0001$) zaawansowania choroby przy rozpoznaniu. Nie obserwowano statystycznie istotnych różnic w długości czasu przeżycia wolnego od choroby w zależności od poziomu ekspresji Ki-67, E-kadheryny, HER2 i ERCC1. Nieistotnie lepsze przeżycie mieli chorzy z $HER2 > 0$ - jest to analogiczna zależność, jak w przypadku analizy czasu całkowitego przeżycia.

Wnioski

1. Poziom ekspresji białek: Ki-67, E-kadheryny, HER2 i ERCC1 nie wpływa istotnie statystycznie na długość czasu przeżycia całkowitego i długość czasu przeżycia wolnego od choroby, a więc nie mają one pierwszorzędowego znaczenia rokowniczego w raku żołądka.
2. Poziom ekspresji E-kadheryny i poziom ekspresji HER2 są powiązane istotnie statystycznie ze stopniem złośliwości histologicznej i typem nowotworu według klasyfikacji Laurena, mogą być rozważane jako kolejne czynniki określające dynamikę biologiczną raka żołądka.
3. Ekspresja białka Ki-67 istotnie statystycznie koreluje z lokalizacją guza w trzonie żołądka, im wyższy poziom ekspresji tym częstsze występowanie raka w trzonie żołądka.
4. Pierwszorzędowe znaczenie rokownicze klasyfikacji TNM potwierdzają własne badania, bowiem długość czasu przeżycia całkowitego i długość czasu przeżycia wolnego od choroby jest istotnie powiązana ze stopniem zaawansowania klinicznego i patologicznego stwierdzonym przy rozpoznaniu.

Prof. dr hab. med. Stanisław Giuszka
specjalista chirurgii ogólnej
i chirurgii onkologicznej
4969055

Monika Olszewska

Lek. Monika Olszewska
specjalista chirurgii ogólnej
i chirurgii onkologicznej
5710367