



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Β΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘ. ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΝΙΚΗΤΕΑΣ

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΟΥ ΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ ΚΑΙ
ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΑ ΜΟΡΙΑ ΣΤΟΝ ΓΑΣΤΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ

ΔΙΑΡΜΑΚΟΠΟΥΛΟΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ
ΓΕΝΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2019

Στον πατέρα μου, Ιωάννη
Με ευγνωμοσύνη

Ημερομηνία κατάθεσης αίτησης: 07/05/2010

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: 30/06/2010

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 27/10/2010

Ημερομηνία κατάθεσης πρότασης συμβουλευτικής επιτροπής: 19/12/2018

Ημερομηνία ορισμού 7μελούς Εξεταστικής Επιτροπής: 23/01/2019

Η τριμελής συμβουλευτική επιτροπή

Νικόλαος Νικητέας: Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ (Επιβλέπων)

Γρηγόριος Κουράκλης: Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Μαρία Γαζούλη: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Η επταμελής επιτροπή

Νικόλαος Νικητέας: Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ (Επιβλέπων)

Γρηγόριος Κουράκλης: Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Μαρία Γαζούλη: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Σταμάτιος Θεοχάρης: Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατροδικαστικής & Τοξικολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Δημήτριος Δημητρούλης: Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Δημήτριος Μαντάς: Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Γεράσιμος Τσουρουφλής: Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

« Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου
Αθηνών δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα »

(Οργανισμός του Πανεπιστημίου Αθηνών, αρθρ 202, παρ 2, Ν. 5343/32)

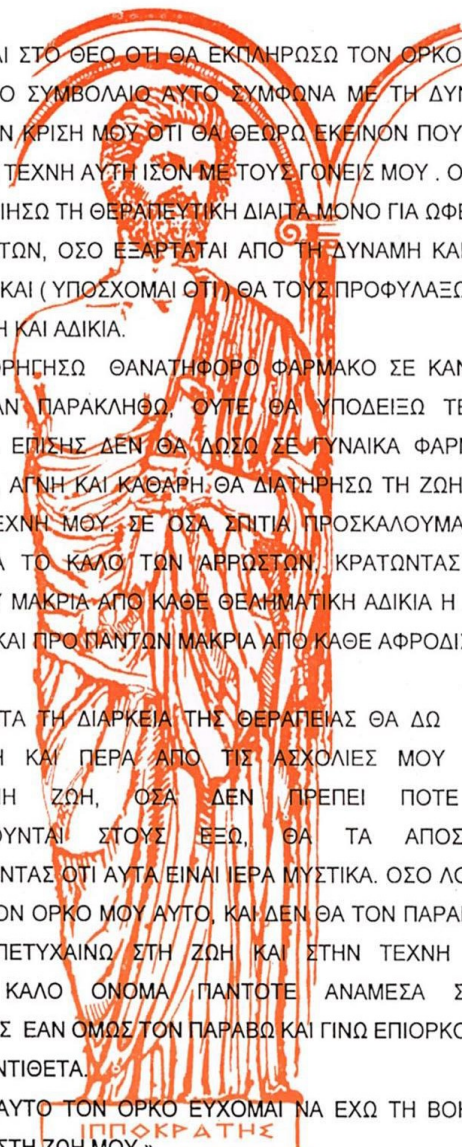
**ΕΚ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΥ ΟΡΚΟΥ
ΚΕΙΜΕΝΟ**

« ΟΜΝΥΜΙ ΤΟΝ ΘΕΟΝ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ. ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ. ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ, Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ. ΤΑΥΤΗΝ ΤΗΝ ΕΠΑΓΓΕΛΙΑΝ ΕΠΙΤΕΛΟΥΝΤΙ ΕΙΗ ΜΟΙ ΤΟΝ ΘΕΟΝ ΑΡΩΓΟΝ ΚΤΗΣΑΣΘΑΙ ΕΝ ΤΩ ΒΙΩ »

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ

ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ



« ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΣΤΟ ΘΕΟ ΟΤΙ ΘΑ ΕΚΠΛΗΡΩΣΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΑΥΤΟ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΟΤΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΕΚΕΙΝΟΝ ΠΟΥ ΜΟΥ ΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ ΙΣΟΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ . ΟΤΙ ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΩ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΙΤΑ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΟΣΟ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ, ΚΑΙ (ΥΠΟΣΧΟΜΑΙ ΟΤΙ) ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΩ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΑ.

ΔΕΝ ΘΑ ΧΟΡΗΓΗΣΩ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΣΟ ΚΑΙ ΑΝ ΠΑΡΑΚΛΗΘΩ, ΟΥΤΕ ΘΑ ΥΠΟΔΕΙΞΩ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΟΥΛΗ. ΕΠΙΣΗΣ ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΟ ΕΚΤΡΩΤΙΚΟ, ΑΓΝΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΗ. ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ . ΣΕ ΟΣΑ ΣΠΙΤΙΑ ΠΡΟΣΚΑΛΟΥΜΑΙ, ΘΑ ΜΠΑΙΝΩ ΓΙΑ ΤΟ ΚΑΛΟ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΚΡΑΤΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΕΑΥΤΟ ΜΟΥ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΘΕΛΗΜΑΤΙΚΗ ΑΔΙΚΙΑ Η ΑΛΛΗ ΔΙΑΦΘΟΡΑ ΚΑΙ ΠΡΟ ΠΑΝΤΩΝ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΑΦΡΟΔΙΣΙΑΚΗ ΠΡΑΞΗ .

ΟΣΑ ΔΕ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΘΑ ΔΩ Η ΘΑ ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΠΕΡΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΣΧΟΛΙΕΣ ΜΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ, ΟΣΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΟΛΟΓΟΥΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΞΕΩ, ΘΑ ΤΑ ΑΠΟΣΙΩΠΩ, ΥΠΟΛΟΓΙΖΟΝΤΑΣ ΟΤΙ ΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΙΕΡΑ ΜΥΣΤΙΚΑ. ΟΣΟ ΛΟΙΠΟΝ ΘΑ ΤΗΡΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ, ΚΑΙ ΔΕΝ ΘΑ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΙΑΖΩ ΕΙΘΕ ΝΑ ΠΕΤΥΧΑΙΝΩ ΣΤΗ ΖΩΗ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΕΧΟΝΤΑΣ ΚΑΛΟ ΟΝΟΜΑ ΠΑΝΤΟΤΕ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ.

ΔΙΔΟΝΤΑΣ ΑΥΤΟ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΕΥΧΟΜΑΙ ΝΑ ΕΧΩ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΤΟΥ ΘΕΟΥ ΣΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ».

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω καταρχήν τον επιβλέποντα μου καθηγητή Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Νικόλαο Νικητέα, για την εμπιστοσύνη, την διδακτική και ερευνητική καθοδήγηση και τον χρόνο που διέθεσε κατά την διάρκεια της συγγραφής αυτής της μελέτης.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Μαρία Γαζούλη για την υποστήριξη, την πολύτιμη καθοδήγηση της και για τις ώρες που αφιέρωσε από τον χρόνο της στην πειραματική πορεία, στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων και στην συγγραφή της διατριβής. Η παρούσα εργασία δεν θα ήταν δυνατόν να διεκπεραιωθεί χωρίς την καθοριστική συμβολή της ως επιστήμονας και ως άνθρωπος.

Αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω από καρδιάς τον Καθηγητή Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Γρηγόριο Κουράκλη για το διαρκές και αμέριστο ενδιαφέρον που έδειξε σε όλη την διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας αυτής, δίνοντας μου διαρκώς χρήσιμες συμβουλές.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον τέως Διευθυντή της Α Χειρουργικής Κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου Πειραιά «ΤΖΑΝΕΙΟ» και δάσκαλο μου, κ. Σπυρίδων Ρίζο, για την πολύτιμη βοήθεια και συμπαράσταση που ανέδειξε σε όλη αυτή την προσπάθεια.

Εκφράζω τέλος τα σέβη και τις ευχαριστίες μου προς την επταμελή επιτροπή που παρευρίσκεται στην παρουσίαση αυτής της μελέτης.

Περιεχόμενα

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	10
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	15
ΣΤΟΜΑΧΟΣ	16
1.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΣΤΟΜΑΧΟΥ	16
1.2 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΧΟΥ	19
ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ	21
2.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	21
2.1.1 Επίπτωση	21
2.1.2 Γεωγραφικές διαφορές	22
2.1.3 Μετανάστευση	23
2.1.4 Ιστολογικοί τύποι	24
2.1.5 Θνησιμότητα	25
2.2 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	26
2.3 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	28
2.3.1 Μακροσκοπική	28
2.3.2 Μικροσκοπική - Ιστολογική ταξινόμηση	30
2.4 ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ	33
2.4.1 Σταδιοποίηση TNM AJCC/UICC	33
2.4.2 Ιαπωνική κατάταξη από την JRS GC (Japanese Society for gastric cancer).....	38
2.4.3 Ταξινόμηση R (υπολειπόμενη νόσος)	40
2.5 ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	40
2.6 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	41
2.7 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	44
2.7.1 Χειρουργική Θεραπεία	44
2.7.2 Επικουρική.....	46
2.7.3 Νεοεπικουρική	46
ΚΑΣΠΑΣΕΣ	48
3.2 ΚΑΣΠΑΣΕΣ – ΔΟΜΗ	49
3.3 ΚΑΣΠΑΣΕΣ - ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	50
3.4 ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ	51
3.4.1 Το εξωγενές μονοπάτι	52
3.4.2 Το ενδογενές ή μιτοχονδριακό μονοπάτι	52
3.5 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΣΠΑΣΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ	53
3.6 ΚΑΣΠΑΣΗ -8 ΚΑΙ ΚΑΣΠΑΣΗ -9	55

ΣΟΥΡΒΙΒΙΝΗ	57
4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	57
4.2 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΙΑΡ ΚΑΙ ΣΟΥΡΒΙΒΙΝΗ	57
4.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΣΟΥΡΒΙΒΙΝΗΣ	60
4.3.1 Κυτταρικός πολλαπλασιασμός.....	60
4.3.2 Αναστολή της απόπτωσης.....	61
4.3.3 Αγγειογένεση, Μετάσταση, Χημειοανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων	62
SDF-1.....	65
5.1 ΧΗΜΕΙΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥΣ	65
5.2 SDF-1.....	67
5.3 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥ SDF-1	68
5.4 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ SDF1-3A' SNP.....	70
E – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ	71
6.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	71
6.2 E-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ.....	73
6.3 ΡΟΛΟΙ ΤΗΣ E-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ	74
6.3.1 E-Σελεκτίνη και φλεγμονή.....	74
6.3.2 E-Σελεκτίνη και αγγείωση καρκινικών όγκων	75
6.3.3 E-Σελεκτίνη και μετάσταση	75
6.4 E-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ	76
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	77
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	78
ΥΛΙΚΑ, ΜΕΘΟΔΟΙ.....	79
8.1 Ασθενείς	79
8.2 Γονοτυπική Ανάλυση.....	81
8.3 Στατιστική ανάλυση.....	86
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	87
9.1 Γενετικοί πολυμορφισμοί CASP8 (-652 6N ins/del) και CASP9 (-1263 A>G)	87
9.2 Γενετικοί πολυμορφισμοί SDF1-3A' SNP	91
9.3 Γενετικοί πολυμορφισμοί στον εκκνητή του γονιδίου της Σουρβιβίνης (-31C>G).....	92
9.4 Γενετικοί πολυμορφισμοί S128R του γονιδίου της E-σελεκτίνης.....	93
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	96
10.1 Γενετικοί πολυμορφισμοί CASP8 (-652 6N ins/del) και CASP9 (-1263 A>G).....	96
10.2 Γενετικοί πολυμορφισμοί SDF1-3A' SNP	98
10.3 Γενετικοί πολυμορφισμοί στον εκκνητή του γονιδίου της Σουρβιβίνης (-31C>G)..	101
10.4 Γενετικοί πολυμορφισμοί S128R του γονιδίου της E-σελεκτίνης.....	103

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	106
ABSTRACT	108
Βιβλιογραφία	110

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

I. ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο:	Λιαρμακόπουλος Εμμανουήλ
Ημερομηνία Γέννησης:	18 Φεβρουαρίου 1978
Υπηκοότητα:	Ελληνική
Τόπος γέννησης:	Πρέβεζα
Email:	manosliarm@gmail.com

II. ΣΠΟΥΔΕΣ – ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 1995: Απολυτήριο Λυκείου, 2^ο Γενικό Λύκειο Πρέβεζας
- 1995-2003: Πτυχίο Ιατρικής από Università degli Studi di Bari (Μπάρι Ιταλίας), Facoltà di Medicina e Chirurgia (Τμήμα Ιατρικής).
- 2013: Λήψη τίτλου Ιατρικής Ειδικότητας της ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ, Αθήνα
- 2014 - 2017 : Εξειδίκευση στην ΕΝΤΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
- 2009-2011: ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (Master - MSc) «Ελάχιστα επεμβατική χειρουργική, Ρομποτική χειρουργική και Τηλεχειρουργική», Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών.
- 2011-2013: ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (Master - MSc) στη «Χειρουργική Ήπατος - Χοληφόρων - Παγκρέατος» (MSc in HPB Surgery), Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Τμήμα Ιατρικής, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

III. ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 11/2004 - 02/2005 : Τρίμηνη εκπαίδευση υπηρεσίας υπαίθρου Γ.Ν.ΑΓΡΙΝΙΟΥ ΑΙΤ/ΝΙΑΣ
- 2005 - 2006 : Θητεία υπαίθρου στο Π.Ι.ΠΑΛΛΑΙΡΟΥ ΑΙΤ/ΝΙΑΣ – Κ.Υ.ΒΟΝΙΤΣΑΣ
- 2006 - 2007 : Ιατρός ΚΕΥΓ και Οπλίτης Ιατρός Μονάδος 211 Μ/ΚΤΕ ΡΟΔΟΣ (Στρατιωτική θητεία)
- 2007 - 2013 : Ειδικότητα Γενικής Χειρουργικής στην Α Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Π. ΤΖΑΝΕΙΟ Πειραιά
- 2014 - 2017 : Εξειδίκευση στην Εντατική Θεραπεία στη ΜΕΘ ΕΑΝΠ “ΜΕΤΑΞΑ” Πειραιά
- 08/2017 - 11/2017 : Επικουρικός Επιμελητής Β’ Γενικής Χειρουργικής στο Χειρουργικό τμήμα του Γ.Ν. Κέρκυρας
- 12/2017 εως σήμερα : Επιμελητής Β’ ΕΣΥ επι θητεία Γενικής Χειρουργικής στο Χειρουργικό τμήμα του Γ.Ν. Φλώρινας

IV. ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

- 1) 9 Δημοσιεύσεις σε Διεθνή Περιοδικά
- «Caspase 8 and caspase 9 gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer»
Liamarkopoulos E, Gazouli M, Aravantinos G, Tzanakis N, Theodoropoulos G, Rizos S, Nikiteas N.
Gastric Cancer. 2011 Oct;14(4):317-21. doi: 10.1007/s10120-011-0045-1.
Epub 2011 Apr 2
 - «Soft tissue paraspinal inflammatory malignant fibrous histiocytoma presenting as a lumbar abscess»
Liarmakopoulos E, Lampropoulos P, Marinis A, Markakis C, Manoloudaki K, Chatzimarkou A, Rizos S.

Case Rep Oncol. 2011;4(2):343-9.doi: 10.1159/000330367. Epub 2011 Jul 9

- «Colon cancer perforation presenting as a strangulating ventral hernia»
Lampropoulos P, Liarmakopoulos E, Markakis C, Voultos M, Marinou TR, Marinis A, Hadjimarkou A, Rizos S.
Case Rep Oncol. 2012 Jan;5(1):17-21. doi: 10.1159/000335682. Epub 2012 Jan 7
- «E-Selectin S128R gene polymorphism in gastric cancer»
Liarmakopoulos E, Gazouli M, Aravantinos G, Theodoropoulos G, Rizos S, Vaiopoulou A, Kouraklis G, Nikiteas N.
Int J Biol Markers. 2013 Apr 23;28(1):38-42. doi: 10.5301/JBM.2012.9582.
- «Multiple synchronous primary neoplasms of the breast, colon and rectum after surgery for endometrial cancer: A case report»
Markakis C, Marinis A, Dikeakos P, Grivas P, Voultos M, Liarmakopoulos E, Zervogiannakou P, Rizos S.
Int J Surg Case Rep. 2013;4(5):493-5. doi: 10.1016/j.ijscr.2013.01.001. Epub 2013 Jan 17
- «Esophageal gastrointestinal stromal tumor: diagnostic complexity and management pitfalls»
Markakis CG, Spartalis ED, Liarmakopoulos E, Kavoura EG, Tomos P.
Case Rep Surg. 2013;2013:968394. doi: 10.1155/2013/968394. Epub 2013 Apr 30
- «Effects of stromal cell-derived factor-1 and survivin gene polymorphisms on gastric cancer risk»
Liarmakopoulos E, Theodoropoulos G, Vaiopoulou A, Rizos S, Aravantinos G, Kouraklis G, Nikiteas N, Gazouli M.
Mol Med Rep. 2013 Mar;7(3):887-92. doi: 10.3892/mmr.2012.1247. Epub 2012 Dec 21
- «Vacuum-assisted therapy accelerates wound healing in necrotizing soft tissue infections: our experience in two intravenous drug abuse patients»
Marinis A, Voultos M, Grivas P, Dikeakos P, Liarmakopoulos E, Paschalidis N, Rizos S.
Infez Med. 2013 Dec;21(4):305-11.

- «Small-bowel necrosis complicating a cytomegalovirus-induced superior mesenteric vein thrombosis in an immunocompetent patient: a case report»
Kalaitzis J, Basioukas P, Karzi E, Markakis C, Liarmakopoulos E, Hadjimarkou A, Rizos S.
J Med Case Rep. 2012 Apr 24;6:118. doi: 10.1186/1752-1947-6-118.
- 2) 2 Δημοσιεύσεις σε Ελληνικά Περιοδικά
- «Η τεχνητή σίτιση στην οξεία παγκρεατίτιδα»
Γ. Φιλίππου, Ι. Καλαϊτζής, Π. Μπασσιούκας, Π. Λαμπρόπουλος, Μ. Λιαρμακόπουλος, Χ. Μαρκάκης, Δ. Βούλτσος, Ε. Μπαλιτσάρης, Σ. Ρίζος,
Επιστημονικά Χρονικά 2009, τεύχος 3^ο, p107-112
 - «Case Report: Primary midgut volvulus in an adult»
A. Marinis, E. Liarmakopoulos, P. Dikaiakos, Ch. Markakis, P. Basioukas and S. Rizos.
Hellenic Journal of Surgery Volume 84, Number 1 (2012), p80-83, DOI: 10.1007/s13126-012-0009-x
- 3) 3 Περιλήψεις σε Διεθνή Περιοδικά
- «Intavenous leiomyomatosis of the uterus: Is it a life threatening disease?»
K. Manoloudaki , E. Skafida, E. Arkoumani, A. Georgiakakis, E. Liarmakopoulos, P. Lampropoulos
Tzaneion Hospital, Pireus, Greece
Virchows Arch (2011) 459 (Suppl 1):S1–S329, DOI 10.1007/s00428-011-1113-y
 - «A porcine model of prosthetic cruroplasty for hiatal hernia repair: Tips & tricks»
C. Markakis, A.E. Papalois, N. Psychalakis, D. Voultzos, E.M. Liarmakopoulos, P. Dikeakos, D. Perrea, P. Tomos
Tzaneio General of Hospital Piraeus/ University of Athens, PALEO FALIRO
Greece Experimental Research Centre, ELPEN, PIKERMI, ATHENS, Greece
Tzaneio General Hospital, PIRAEUS, Greece
University of Athens, ATHENS, Greece
Surg Endosc (2014) 28:S54–S191, DOI 10.1007/s00464-014-3484-z

- «Life threatening hemorrhage due to left gastric artery erosion, 6 years after laparoscopic adjustable gastric banding»

C. Markakis, N. Paschalidis, G. Paraskevas, D. Voultzos, E.M. Liarmakopoulos, P. Dikeakos, S. Rizos

Tzaneio General of Hospital Piraeus/ University of Athens, PALEO FALIRO, Greece

Tzaneio General Hospital, PIRAEUS, Greece

Surg Endosc (2014) 28:S54–S191, DOI 10.1007/s00464-014-3484-z

- 4) 3 Ανακοινώσεις σε Διεθνή συνέδρια
- 5) 35 Ανακοινώσεις σε Ελληνικά συνέδρια

V. ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- 1) 2 Μεταπτυχιακά Ειδίκευσης Master και 1 υπό περαίωση
- 2) Μετεκπαίδευση - εξειδίκευση στη Εντατικολογία
- 3) Πιστοποιητικό ATLS
- 4) Πιστοποιητικό BLS/AED
- 5) 50 Ελληνικά Μετεκπαιδευτικά μαθήματα – Σεμινάρια
- 6) 2 Διεθνή Μετεκπαιδευτικά μαθήματα – Σεμινάρια
- 7) 29 Ελληνικά συνέδρια
- 8) 7 Διεθνή συνέδρια
- 9) 1 Παρουσίαση Εκπαιδευτικού μαθήματος
- 10) Cambridge First Certificate
- 11) Κρατικό Πιστοποιητικό Γλωσσομάθειας Επίπεδο Γ1 Ιταλικής γλώσσας

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΣΤΟΜΑΧΟΣ

1.1 ANATOMIA ΣΤΟΜΑΧΟΥ

Ο στόμαχος είναι το πιο ανευρισμένο τμήμα του εντερικού σωλήνα. Βρίσκεται στην άνω κοιλιά, καταλαμβάνει τμήμα του αριστερού υποχονδρίου και το ιδίως επιγάστριο, και έχει σχήμα ασκού με ένα μέσο μήκος 29-30 εκ. και πλάτος 5-10 εκ. Το σχήμα και η θέση του ωστόσο, ποικίλλουν και εξαρτώνται από παράγοντες όπως ο τόνος του ίδιου του στομάχου, η πληρότητα του, η στάση του ατόμου, η θέση των διπλανών οργάνων, ο τόνος των μυών του κοιλιακού τοιχώματος και οι κινήσεις του διαφράγματος.

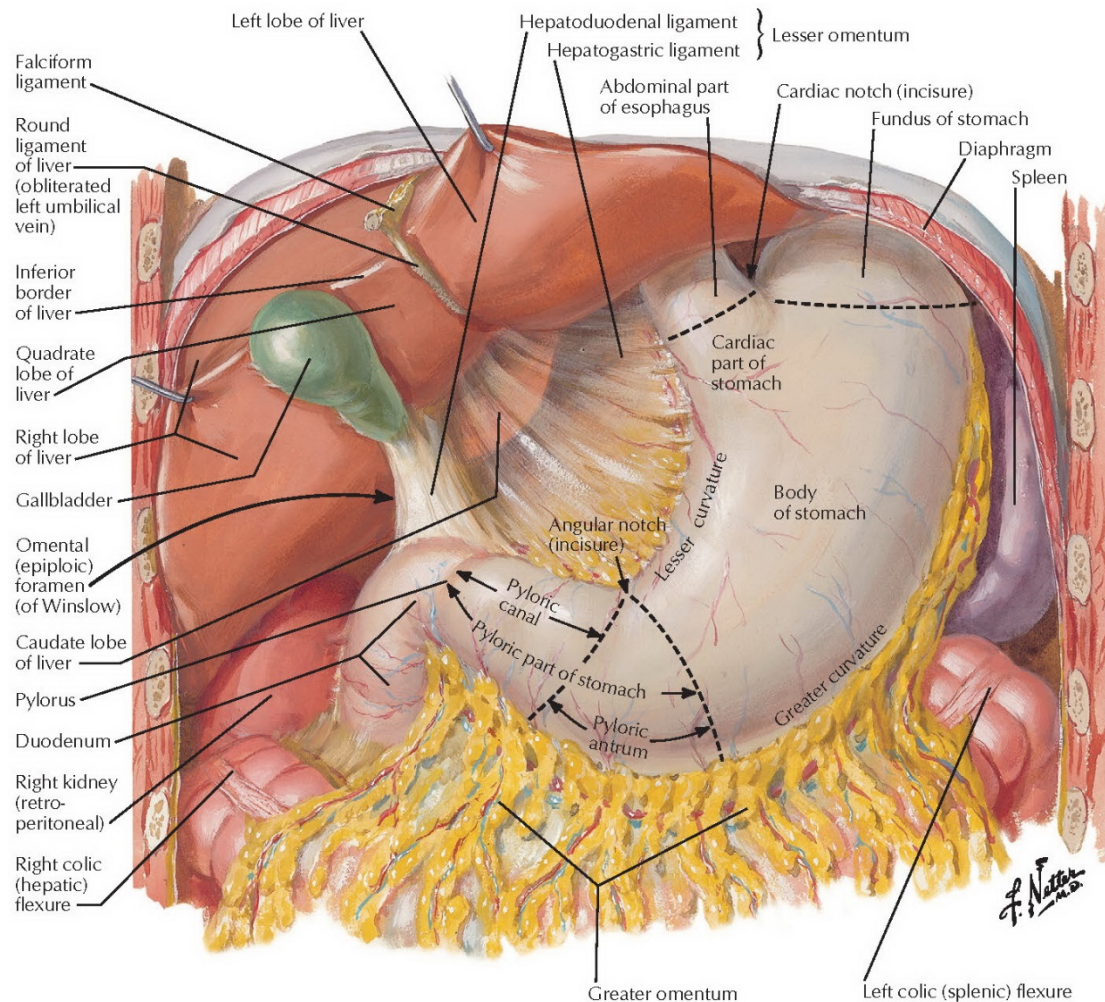
Στον στόμαχο διακρίνουμε 2 στόμια, 2 επιφάνειες και 2 τόξα. Προς τα άνω, ενώνεται με τον οισοφάγο στην καρδιοοισοφαγική συμβολή μέσω του οισοφαγικού (καρδιακού) στομίου ή καρδία. Προς τα κάτω, επικοινωνεί με το δωδεκαδάκτυλο μέσω του πυλωρικού στομίου (άντρου) ή πυλωρός. Στο εσωτερικό του πυλωρού ανευρίσκεται η πυλωρική βαλβίδα που σχηματίζεται από μια πάχυνση της κυκλοτερής μυϊκής στοιβάδας, τον σφιγκτήρα του πυλωρού.

Οι επιφάνειες του στομάχου είναι η πρόσθια και η οπίσθια που χωρίζονται μεταξύ τους από το έλασσον (άνω) και μείζον τόξο (κάτω). Κατά μήκος των δύο τόξων προσφύονται δύο πτυχές του περιτοναίου, το έλασσον και μείζον επίπλουν. Το έλασσον εκτείνεται από τις πύλες του ήπατος μέχρι το έλασσον τόξο (ηπατογαστρικός σύνδεσμος) και τα δύο πρώτα εκατοστά του δωδεκαδακτύλου (ηπατοδωδεκαδακτυλικός σύνδεσμος). Το μείζον εκτείνεται από το μείζον τόξο και κρέμεται ελεύθερα προς τα κάτω σκεπάζοντας το μεγαλύτερο τμήμα του λεπτού και του παχέος εντέρου.

Ο στόμαχος διακρίνεται σε 3 κύρια μέρη. Τον θόλο, που βρίσκεται αριστερά της καρδιοοισοφαγικής συμβολής και συνήθως καταλαμβάνεται από αέρα (γαστρική φυσαλίδα), το σώμα που είναι το μεγαλύτερο τμήμα, και το πυλωρικό άντρο που ξεκινά από την γωνιαία εντομή του ελάσσονος τόξου και φθάνει έως τον πυλωρό.

Όσον αφορά τις σχέσεις του, προς τα πάνω έρχεται σε επαφή με τον αριστερό θόλο του διαφράγματος, προσθίως με το ήπαρ, τους πλευρικούς χόνδρους (6^{ος} – 9^{ος}), με το

διάφραγμα και το πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα. Η οπίσθια επιφάνεια του έρχεται σε επαφή, από πάνω προς τα κάτω, με το διάφραγμα, τον σπλήνα, το αριστερό νεφρό και επινεφρίδιο, το πάγκρεας, το μεσόκολο και το εγκάρσιο κόλον. (εικόνα 1.1)

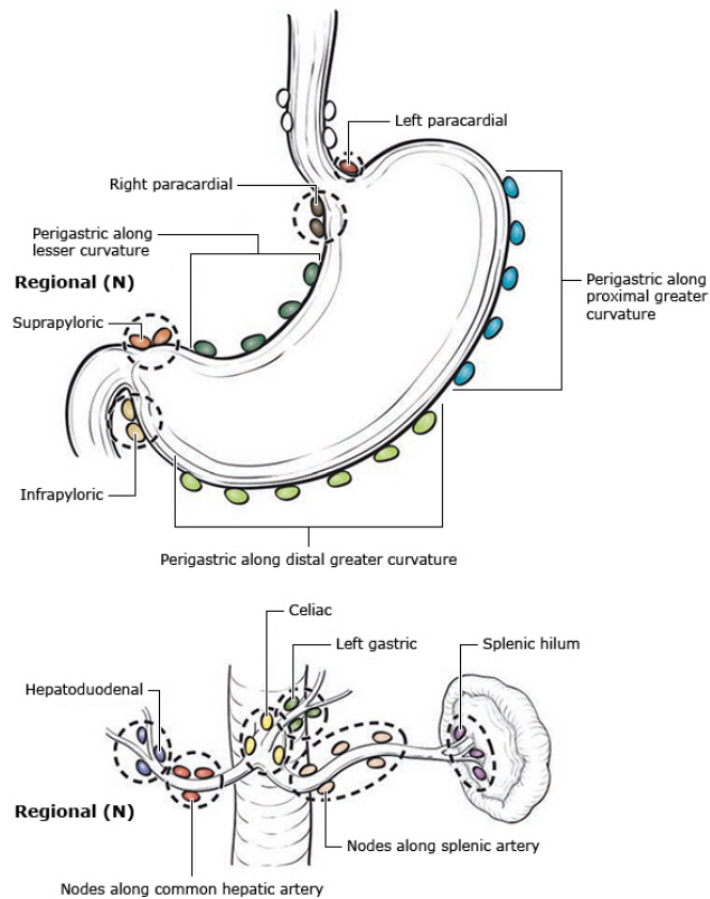


Εικόνα 1.1 : Στόμαχος [1]

Η αγγείωση του στομάχου είναι ιδιαίτερος πλούσια. Το έλασσον τόξο αιματώνεται από την αριστερή γαστρική αρτηρία, που είναι κλάδος του αλλήρειου τρίποδα, και την δεξιά γαστρική, που είναι κλάδος της κοινής ηπατικής. Οι δύο αρτηρίες αναστομώνονται μεταξύ τους. Το μείζον τόξο αιματώνεται από την δεξιά γαστροεπιπλοϊκή, κλάδο της γαστροδωδεκαδακτυλικής, η οποία αναστομώνεται με την αριστερή γαστροεπιπλοϊκή, κλάδο της σπληνικής. Τέλος, ο θόλος αγγειώνεται από 4-5 βραχείες γαστρικές αρτηρίες, που είναι κλάδοι της σπληνικής αρτηρίας.

Το φλεβικό δίκτυο του στομάχου είναι και αυτό πλούσιο και απάγει το αίμα στο σύστημα της πυλαίας φλέβας και εν μέρει στις κατώτερες οισοφαγικές φλέβες (στεφανιαία φλέβα). [2] [3]

Τα λεμφαγγεία του στομάχου καταλήγουν σε διάφορες ομάδες λεμφαδένων. Οι περιγαστρικοί λεμφαδένες βρίσκονται κατά μήκος του ελάσσονος και μείζονος τόξου, ενώ οι κυριότερες από τις υπόλοιπες ομάδες ακολουθούν την κοιλιακή αρτηρία και τους κλάδους της αλλά και την πυλαία κυκλοφορία. Πιο συγκεκριμένα αυτές οι ομάδες είναι [4](εικόνα 1.2):



Εικόνα 1.2 : Επιχώριοι γαστρικοί λεμφαδένες [4]

- περιγαστρικοί κατά μήκος του μείζονος τόξου (συμπεριλαμβάνονται του μείζονος τόξου και του μείζονος επιπλόου)
- περιγαστρικοί κατά μήκος του ελάσσονος τόξου (συμπεριλαμβάνονται του ελάσσονος τόξου και του ελάσσονος επίπλοου)
- δεξιοί και αριστεροί παρακαρδιακοί (καρδιοοισοφαγικής)
- υπερπυλωρικοί (συμπεριλαμβάνονται και της γαστροδωδεκαδακτυλικής)
- υποπυλωρικοί (συμπεριλαμβάνονται και της γαστροεπιπλοϊκής)
- κατά μήκος της αριστερής γαστρικής αρτηρίας
- κατά μήκος του αλλήρειου τρίποδα
- κατά μήκος της κοινής ηπατικής αρτηρίας
- ηπατοδωδεκαδακτυλικού συνδέσμου (κατά μήκος της κοινής ηπατικής αρτηρίας και της πυλαίας φλέβας)
- σπληνικής αρτηρίας
- πυλών σπλήνα

1.2 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΧΟΥ

Το τοίχωμα του στομάχου αποτελείται από τέσσερις χιτώνες, που από μέσα προς τα έξω είναι : ο βλεννογόνος, ο υποβλεννογόνιος, ο μυϊκός και ο ορογόνος.

Ο βλεννογόνος αποτελείται από το μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο που παράγει βλέννα, από το χόριο, από αδένες και από την βλεννογόνο μυϊκή στιβάδα. Περιέχει διάφορους τύπους κυττάρων με διαφορετικές λειτουργίες. Τα τοιχωματικά ή οξυντικά κύτταρα παράγουν υδροχλωρικό οξύ και τον ενδογενή παράγοντα, τα βασικά ή θεμέλια παράγουν την πεψίνη, τα επιθηλιακά παράγουν εξωκυττάριο υγρό, τα βλενώδη βλέννη, τα G κύτταρα του πυλωρού παράγουν γαστρίνη, τα D κύτταρα σωματοστατίνη ενώ στον θόλο υπάρχουν και ιστιοκύτταρα που αποθηκεύουν ισταμίνη και άλλες αγγειοκινητικές ουσίες. Η υφή του βλεννογόνου αλλάζει στα διάφορα τμήματα του στομάχου. Στον πυλωρό υπάρχουν μικρά διακλαδούμενα αδένια που περιέχουν κύτταρα G και βλενώδη κύτταρα, στον θόλο συναντάμε βαθείς σωληνώδεις αδένες με θεμέλια και τοιχωματικά κύτταρα, στο σώμα ο βλεννογόνος

έχει ενδιάμεση υφή και τέλος ο καρδιακός βλεννογόνος μοιάζει με τον πλωρικό χωρίς όμως να περιέχει G κύτταρα.

Ο υποβλεννογόνιος χιτώνας αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό και περιέχει το υποβλεννογόνιο νευρικό πλέγμα του Meissner, που ρυθμίζει την έκκριση των αδένων.

Ο μυϊκός χιτώνας αποτελείται από λείες μυϊκές ίνες και περιέχει το μυεντερικό πλέγμα του Auerbach, το οποίο ρυθμίζει τις κινήσεις του στομάχου. Ο χιτώνας αυτός, περιλαμβάνει τρεις στιβάδες που από έξω προς τα μέσα είναι : η επιμήκης, η κυκλοτερής και η λοξή. Η κυκλοτερής είναι αυτή που σχηματίζει τον σφιγκτήρα του πλωρού.

Τέλος, ο ορογόνος αποτελεί μέρος του σπλαχνικού πετάλου του περιτοναίου και περιβάλλει ολόκληρο τον στόμαχο εκτός από τα σημεία πρόσφυσης του μείζονος και ελάσσονος επιπλόου. [2] [3]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ

2.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

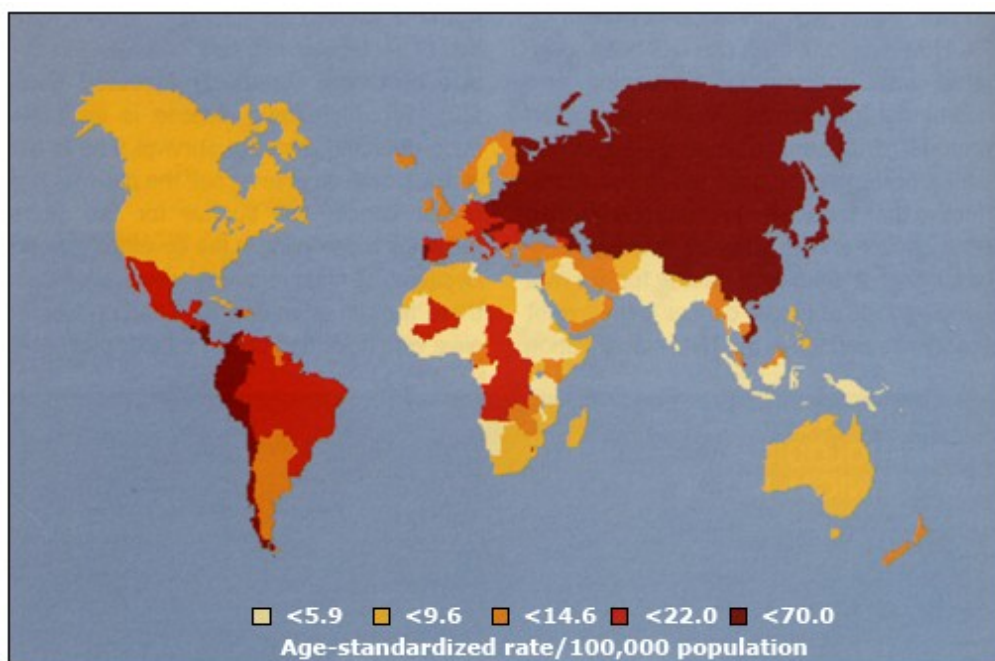
2.1.1 Επίπτωση

Ο γαστρικός καρκίνος είναι ένας από τους πιο συχνούς καρκίνους παγκοσμίως [5]. Στις Ηνωμένες Πολιτείες διαγιγνώσκονται κάθε χρόνο περίπου 22.220 ασθενείς, από τους οποίους 10.990 αναμένεται να πεθάνουν. [6] Ήταν η κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως έως τη δεκαετία του 80', όταν ξεπεράστηκε από τον καρκίνο του πνεύμονα. [7] [8] Η παγκόσμια επίπτωση του γαστρικού καρκίνου μειώθηκε τις τελευταίες δεκαετίες. [9] [10] [11] [12] [13] Αυτό οφείλεται μερικώς στην αναγνώριση ορισμένων παραγόντων κινδύνου, όπως του *H. pylori*, και άλλων διατροφικών και περιβαλλοντικών κινδύνων. Η μείωση ξεκίνησε, ωστόσο, πριν την ανακάλυψη του *H. pylori*. Πρώτα συνέβη σε χώρες με χαμηλή συχνότητα του συγκεκριμένου καρκίνου, όπως οι ΗΠΑ (ξεκινώντας από το 1930), ενώ η μείωση σε χώρες με υψηλή συχνότητα, όπως η Ιαπωνία, ήταν βραδύτερη. Στο Ηνωμένο Βασίλειο, υπήρξε μια συνεχής μείωση στην επίπτωση εμφάνισης του καρκίνου, με μείωση του σχετικού κινδύνου από 1,14 το 1971 έως το 1975 σε 0,84 από το 1996 έως το 2000 στους άνδρες, και από 1,18 το 1971 έως 1975 σε 0,81 το 1996 έως 2000 στις γυναίκες. [14] Στην Κίνα, η πτώση ήταν λιγότερο δραματική από ό,τι σε άλλες χώρες. Παρότι σημειώθηκε μια συνολική μείωση της επίπτωσης, παρατηρήθηκε αύξηση στις γηραιότερες και νεότερες ομάδες ενώ παρατηρήθηκε λιγότερο σημαντική μείωση μεταξύ των γυναικών από ό,τι στους άνδρες. [15] Αξίζει να σημειωθεί ότι η ηλικία εμφάνισης του γαστρικού καρκίνου στον κινεζικό πληθυσμό είναι πιο πρόωμη από ότι στη Δύση. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, στους παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του στομάχου περιλαμβάνονται το αρσενικό φύλο, η μη λευκή φυλή, και η μεγάλη ηλικία. [16] Μεταξύ 1977 και 2006, το ποσοστό επίπτωσης του γαστρικού καρκίνου στις Ηνωμένες Πολιτείες, εξαιρώντας πάλι της καρδιακής μοίρας, μειώθηκε στις ομάδες όλων των φυλών και ηλικιών, εκτός από τους λευκούς ηλικίας 25 έως 39 χρονών, στους οποίους αυξήθηκε. [17] Αυτό είναι αξιοσημείωτο, δεδομένου ότι μπορεί να σημαίνει την ύπαρξη νέων περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου. Μια ενδιαφέρουσα υπόθεση είναι ότι οφείλεται στην

διαδεδομένη πλέον χρήση του ψυγείου. [18] [19] Η χρήση του ψυγείου βελτίωσε την αποθήκευση των τροφίμων, μειώνοντας τη χρήση αλατιού για την συντήρηση των τροφίμων όπως και τις βακτηριακές και μυκητιασικές μολύνσεις. Επίσης βοήθησε στη διατήρηση και μεγαλύτερη διαθεσιμότητα για κατανάλωση φρέσκων λαχανικών, τα οποία είναι πολύτιμη πηγή αντιοξειδωτικών, βοηθώντας σημαντικά στην πρόληψη του καρκίνου. Παρά αυτή την πτώση, ο απόλυτος αριθμός των νέων περιστατικών κάθε χρόνο αυξάνεται, κυρίως λόγω της γήρανσης του παγκόσμιου πληθυσμού. Επιπλέον, για ασαφείς λόγους, η τάση μείωσης της συχνότητας εμφάνισης έχει διακοπεί και αντικαθίσταται από μια ανοδική τάση σε νεαρούς ασθενείς τα τελευταία χρόνια. [20] Συνεπώς ο γαστρικός καρκίνος θα εξακολουθεί να αντιπροσωπεύει μια σημαντική αιτία καρκίνου και θνησιμότητας σχετιζόμενη με καρκίνο το εγγύς μέλλον.

2.1.2 Γεωγραφικές διαφορές

Η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του στομάχου ποικίλλει ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή. Είναι υψηλότερη στην Ανατολική Ασία, την Ανατολική Ευρώπη και τη Νότια Αμερική, ενώ τα χαμηλότερα ποσοστά ανευρίσκονται στη Βόρεια Αμερική και σε κάποια μέρη της Αφρικής (εικόνα 2.1)

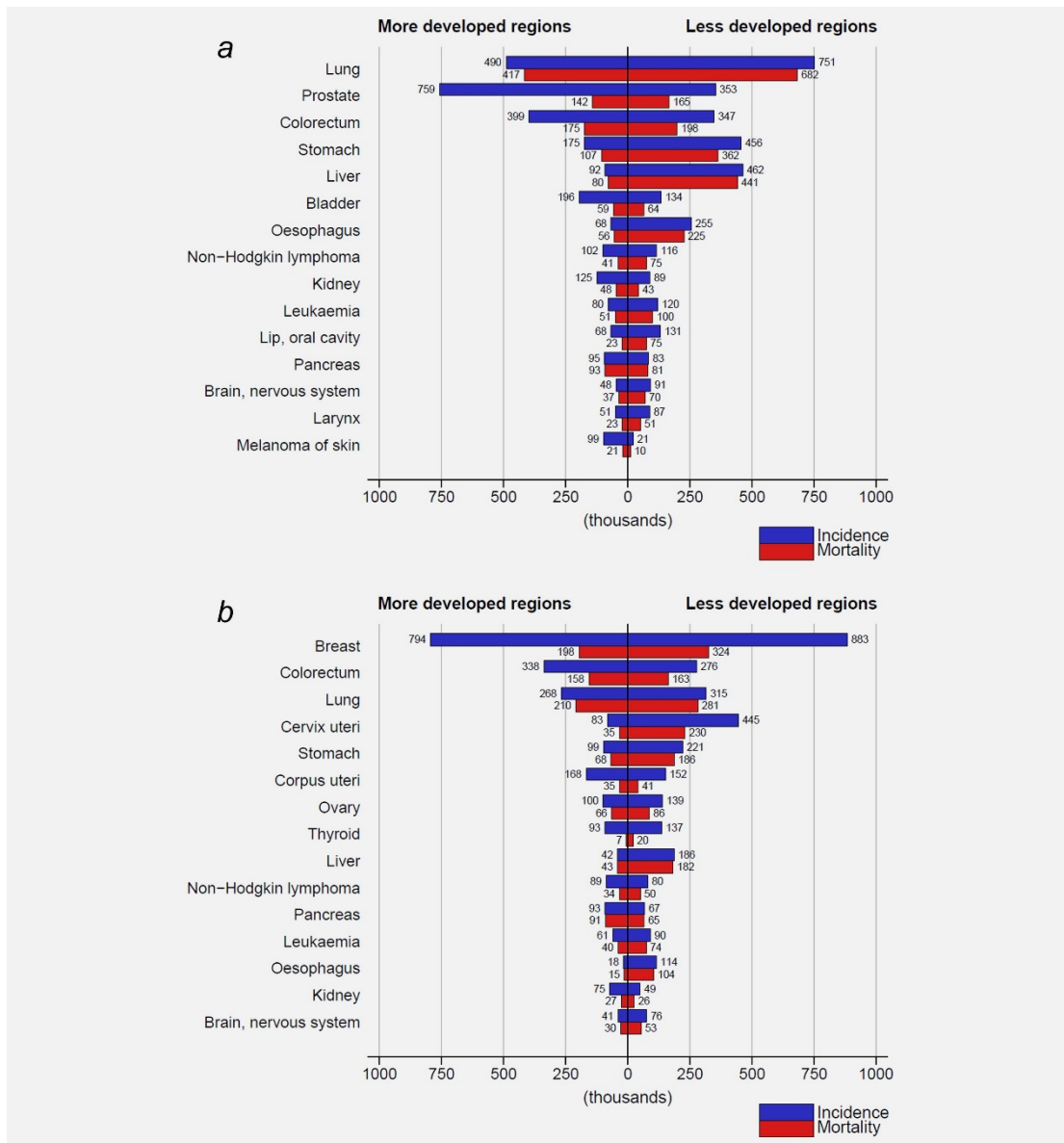


Εικόνα 2.1 : Παγκόσμια επίπτωση γαστρικού καρκίνου στους άνδρες [21]

Πάνω από το 70% των γαστρικών καρκίνων εμφανίζονται στις αναπτυσσόμενες χώρες. Ο γαστρικός καρκίνος είναι πιο συχνός στους άνδρες από ό, τι στις γυναίκες, τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες. (εικόνα 2.2). [5] Υπάρχουν επίσης σημαντικές διαφορές στη συχνότητα μεταξύ των διαφόρων εθνοτικών ομάδων της ίδιας περιοχής. Έχει παρατηρηθεί σε αρκετές χώρες μια διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης αλλά και τη θνησιμότητα από το βορρά προς νότο, με τις βόρειες περιοχές να έχουν υψηλότερο κίνδυνο θνησιμότητας από τις νότιες. Αυτή η διαφορά είναι ιδιαίτερα αισθητή στο βόρειο ημισφαίριο, ενώ στο νότιο ημισφαίριο, ο κίνδυνος θνησιμότητας τείνει να είναι υψηλότερος στα νότια μέρη. [22] [23] [24] [25] [26] Στην Ιαπωνία παρατηρείται υψηλότερη θνησιμότητα και συχνότητα στις βορειοανατολικές περιοχές ενώ στην Αγγλία και την Ουαλία είναι χαμηλότερη στα νότια και ανατολικά και σε υψηλότερα επίπεδα στα βόρεια και δυτικά. [27] [28] Στην Κίνα τέλος η συχνότητα και η θνησιμότητα του καρκίνου του στομάχου ποικίλλει από επαρχία σε επαρχία, με υψηλότερες τιμές στο βορά. [29] [30] Φαίνεται ότι τα υψηλότερα γεωγραφικά πλάτη σχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο καρκίνου του στομάχου.

2.1.3 Μετανάστευση

Η μετανάστευση, και ιδίως η διεθνής μετανάστευση, μπορεί να μεταβάλει τον κίνδυνο, διότι οι μετανάστες, κυρίως δεύτερης και τρίτης γενιάς, υιοθετούν τον νέο τρόπο ζωής και επακόλουθα και τα τοπικά χαρακτηριστικά της νόσου. Μελέτες των Ιαπώνων μεταναστών στις ΗΠΑ επιβεβαίωσαν ότι η πρόωμη έκθεση σε περιβαλλοντικούς και όχι γενετικούς παράγοντες, έχει μεγαλύτερη επίδραση στα ποσοστά θνησιμότητας και εμφάνισης της νόσου. Στις επόμενες γενεές, που γεννήθηκαν και μεγάλωσαν στις Ηνωμένες Πολιτείες, το ποσοστό θνησιμότητας μειώθηκε πλησιάζοντας το ποσοστό που υπήρχε στους λευκούς των ΗΠΑ. [31] [32]



Εικόνα 2.2 : Η θνησιμότητα και η συχνότητα εμφάνισης του γαστρικού καρκίνου ανα τον κόσμο στους άνδρες (a) και στις γυναίκες (b) [33]

2.1.4 Ιστολογικοί τύποι

Σύμφωνα με την κατάταξη κατά Lauren (1965) ο γαστρικός καρκίνος διακρίνεται σε δύο κατηγορίες, στον εντερικού τύπου και διάχυτου τύπου, με διαφορές όσον αφορά την επιδημιολογία, αιτιολογία, παθογένεση, και τη συμπεριφορά. [34]Ο "εντερικού τύπου" καρκίνος είναι πιο συχνός στους άνδρες, και στις μεγαλύτερες ηλικιακές ομάδες. Είναι πιο διαδεδομένος σε περιοχές υψηλού κινδύνου και πιθανώς να

συνδέεται με περιβαλλοντικούς παράγοντες. Από την άλλη, ο "διάχυτου τύπου", είναι εξίσου συχνός και στα δύο φύλα, πιο κοινός σε νεότερες ηλικιακές ομάδες, και έχει χειρότερη πρόγνωση από τον "εντερικού τύπου". Υπήρξε μια παγκόσμια μείωση της επίπτωσης του "εντερικού τύπου" τις τελευταίες δεκαετίες που είναι παράλληλη με τη συνολική μείωση της συχνότητας εμφάνισης του καρκίνου του στομάχου. Αντίθετα, η μείωση του "διάχυτου τύπου" ήταν πιο σταδιακή. Ως αποτέλεσμα, ο "διάχυτου τύπου" αντιπροσωπεύει σήμερα περίπου το 30% του γαστρικού καρκίνου. [35] Παρά τη συνολική μείωση του γαστρικού καρκίνου, υπήρξε μια εκρηκτική αύξηση της συχνότητας εμφάνισης του καρκίνου της καρδιακής μοίρας. [36] [37] [38] Αυτό αποδίδεται είτε στη μείωση του καρκίνου του σώματος και του άντρου, είτε στο γεγονός ότι ο καρκίνος της καρδιάς είναι μια διαφορετική οντότητα από εκείνον του υπόλοιπου στομάχου. Ο καρκίνος της κάρδιο-οισοφαγικής συμβολής μοιράζεται τα δημογραφικά και παθολογικά χαρακτηριστικά του αδενοκαρκινώματος του κάτω τριτημορίου του οισοφάγου, όπως το ότι είναι πιο συχνός στους άντρες. Οι εγγύς όγκοι στομάχου διαφέρουν επίσης από τους περιφερικούς στο ότι δεν συνδέονται με την σοβαρή μορφή γαστρίτιδα που χαρακτηρίζεται από ατροφία ή / και εντερική μεταπλασία. Επί πλέον, τείνουν να είναι πιο επιθετικοί από τους περιφερικούς. Τέλος κάποιοι περιβαλλοντικοί παράγοντες ή/και χημικά καρκινογόνα (π.χ. τσιγάρο και αλκοόλ) μπορεί να σχετίζονται περισσότερο με την ανάπτυξη καρκίνου στο συγκεκριμένο τμήμα του στομάχου. [39]

2.1.5 Θνησιμότητα

Υπήρξε μια σταθερή μείωση της θνησιμότητας του καρκίνου του στομάχου (βάση δεδομένων GLOBOCAN). Μια μελέτη της θνησιμότητας του γαστρικού καρκίνου στην Ευρώπη και σε άλλες περιοχές του κόσμου μεταξύ 1980 - 2005 κατέδειξε ετήσια ποσοστιαία μεταβολή του δείκτη θνησιμότητας -3% με -4% για τις μεγάλες ευρωπαϊκές χώρες. Τα ετήσια ποσοστά μεταβολής ήταν παρόμοια στην Κορέα (-4,3%), στην Ιαπωνία (-3,5%), στην Αυστραλία (-3,7%), και στις ΗΠΑ (-3,6%). Στη Λατινική Αμερική, η μείωση ήταν λιγότερο έντονη, αλλά σταθερή (-1,6 έως -2,6%). [40]

2.2 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Οι περισσότεροι ασθενείς με καρκίνο στομάχου εμφανίζουν συμπτώματα την στιγμή που το νεόπλασμα έχει αναπτυχθεί αρκετά. Τα συμπτώματα αυτά έχουν σχέση είτε με την διαταραχή της κινητικότητας είτε με την πυλωρική απόφραξη. Κατά τη στιγμή της διάγνωσης, το 50% των ασθενών έχει εκτεταμένη νόσο και μόνο το ήμισυ αυτών που φαίνεται ότι έχουν μόνο τοπική νόσο θα μπορέσουν να υποβληθούν σε ριζική εκτομή. Στα πρώιμα στάδια (Πρώιμος Γαστρικός Καρκίνος), όταν είναι χειρουργικά θεραπεύσιμος, τα κλινικά συμπτώματα λείπουν τελείως και η διάγνωση γίνεται τυχαία ή κατά τη διάρκεια προγραμμάτων screening, που γίνονται μόνο σε χώρες με υψηλή συχνότητα εμφάνισης του συγκεκριμένου καρκίνου, όπως Ιαπωνία, Βενεζουέλα και Χιλή.

Η απώλεια βάρους και το συνεχές κοιλιακό άλγος είναι τα κυριότερα συμπτώματα κατά την αρχική διάγνωση (πίνακας 2.1). Η απώλεια βάρους οφείλεται στην ανεπαρκή πρόσληψη θερμίδων και μπορεί να αποδοθεί στην ανορεξία, τη ναυτία, το κοιλιακό άλγος, το αίσθημα ταχείας πληρώσεως και στη δυσφαγία. Το άλγος, που είναι και το πιο κοινό σύμπτωμα, εντοπίζεται στο επιγάστριο, είναι ήπιο αρχικά ενώ γίνεται πιο έντονο και συνεχές καθώς η νόσος εξελίσσεται. Δυσφαγία παρουσιάζεται σε ασθενείς που έχουν καρκίνο στο άνω τριτημόριο του στομάχου ή στην καρδιοοισοφαγική συμβολή. Οι ασθενείς μπορεί επίσης να παρουσιάσουν ναυτία ή αίσθημα ταχείας πλήρωσης σε περιπτώσεις μεγάλων όγκων ή πλαστικής λινίτιδας. Γαστρική απόφραξη και έμετος είναι συνήθως σημεία προχωρημένης νόσου στον πυλωρό. Δεν είναι σπάνια η χρόνια λανθάνουσα αιμορραγία, με ή χωρίς σιδηροπενική αναιμία ενώ αντίθετα σπάνια είναι η μέλαινα ή αιματέμεση και η περιτονίτιδα από διάτρηση του όγκου. Σπάνιο είναι και το σύνδρομο ψευδο-αχαλασίας που οφείλεται στην διήθηση του πλέγματος του Auerbach ή της γαστροοισοφαγικής συμβολής, το οποίο πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν στη διαφορική διάγνωση σε ηλικιωμένους ασθενείς με αχαλασία. [41] [42]

Στα πρώιμα στάδια της νόσου, η αντικειμενική εξέταση είναι συνήθως χωρίς ευρήματα. Στην προχωρημένη νόσο, η παρουσία σκληρής ανώδυνης κοιλιακής μάζας είναι το πιο συχνό εύρημα. Οι ασθενείς μπορεί να παρουσιάσουν σημεία και συμπτώματα μεταστατικής νόσου, όπως η κακή γενική κατάσταση και θρέψη, η απώλεια βάρους,

ηπατομεγαλία, ασκίτης, διογκωμένους λεμφαδένες στον αριστερό υπερκλειδίο βόθρο (σημείο Virchow), αριστεροί μασχαλιαίοι λεμφαδένες (Irish node), διήθηση ομφαλού (σημείο Sister Mary Joseph), διόγκωση ωοθηκών (σημείο Krukenberg), ψηλαφητό εξωαυλικό όγκο ορθού (σημείο Blumer). Τέλος μπορεί να εμφανιστούν παρανεοπλασματικές εκδηλώσεις όπως η σμηγματορροϊκή υπερκεράτωση (σημείο Leser-Trelat), μελανίζουσα ακάνθωση, διαταραχές πήκτικότητας (σύνδρομο Trousseau), οζώδης πολυαρθρίτιδα, μεμβρανώδης νεφροπάθεια και μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία. [43] [44] [45] [46] [47] [48] [49] [50] [51] [52] [53]

<u>ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ</u>	<u>ΠΟΣΟΣΤΟ (%)</u>
Απώλεια βάρους	62
Κοιλιακό άλγος	52
Ναυτία	34
Δυσφαγία	26
Μέλαινες κενώσεις	20
Αίσθημα ταχείας πληρώσεως	18
Άλγος παρόμοιο με του έλκους	17

Πίνακας 2.1 : Αρχικά συμπτώματα κατά την εμφάνιση του γαστρικού καρκίνου [54]

2.3 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Έχουν προταθεί πολλές κατατάξεις για τον γαστρικό καρκίνο, βασιζόμενες στα μακροσκοπικά ή μικροσκοπικά χαρακτηριστικά του.

2.3.1 Μακροσκοπική

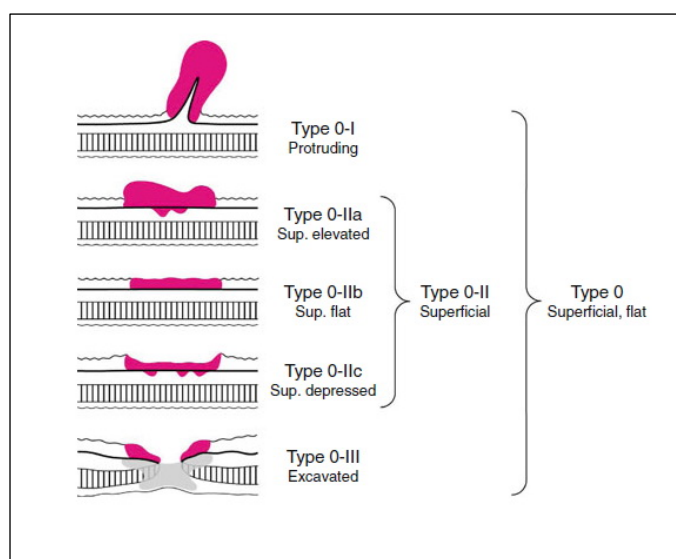
Καταρχήν κατατάσσεται σε δύο κύριες κατηγορίες.

- A. Πρώιμος Γαστρικός Καρκίνος (Early gastric cancer)
- B. Προχωρημένος Γαστρικός Καρκίνος (Advanced gastric cancer)

Ο διαχωρισμός γίνεται βάσει του βαθμού διήθησης του γαστρικού τοιχώματος. «Πρώιμος Γαστρικός Καρκίνος» ορίζεται το αδenoκαρκίνωμα στομάχου που περιορίζεται στον βλεννογόνο ή στην υποβλεννογόνο στιβάδα (T₁ κατά TNM) ανεξαρτήτως λεμφαδενικών μεταστάσεων (N₀ ή N₁ κατά TNM). Η πενταετής επιβίωση των ασθενών με Πρώιμο Γαστρικό Καρκίνο είναι 85-100% ενώ στον Προχωρημένο (T₂-T₄ κατά TNM) είναι 5-20%. [55]

Ο Πρώιμος Γαστρικός Καρκίνος διακρίνεται σε 3 τύπους σύμφωνα με την μακροσκοπική μορφολογία του (Ιαπωνική κατάταξη). [56](πίνακας 2.2), (εικόνα 2.3)

Πρώιμος Γαστρικός Καρκίνος	
Τύπος I	Πολυποειδής
Τύπος II	Επιφανειακός
IIα	Επηρμένος
IIβ	Επίπεδος
IIγ	Υποσκαμμένος
Τύπος III	Ελκωτικός

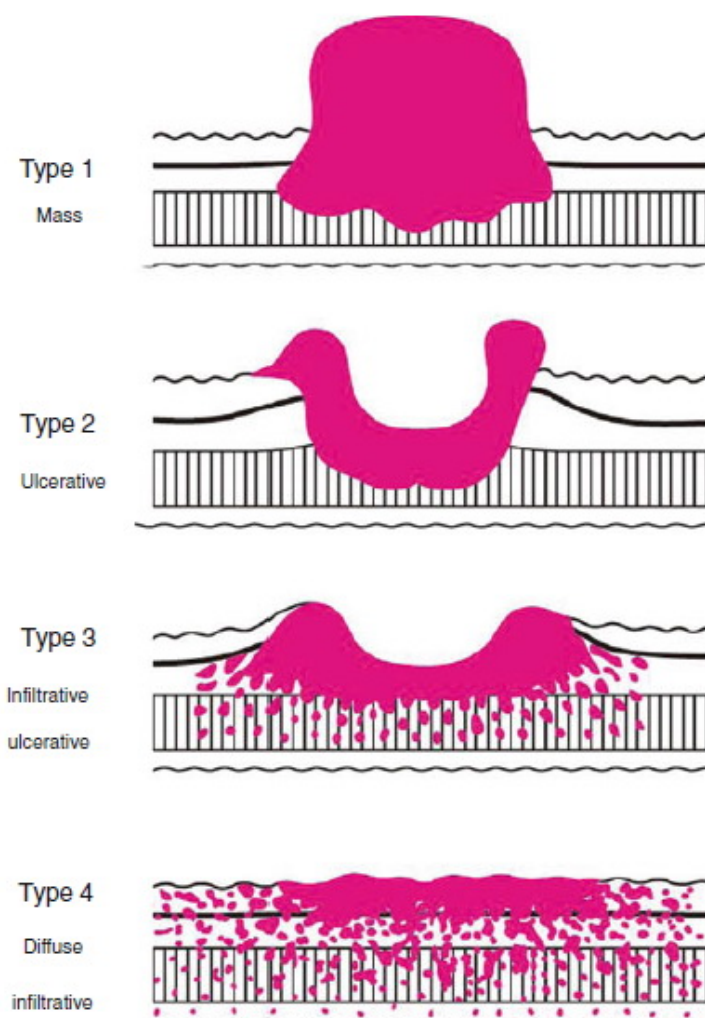


Πίνακας 2.2, Εικόνα 2.3. : Μακροσκοπικοί τύποι Πρώιμου Γαστρικού Καρκίνου [53]

Ο Προχωρημένος Γαστρικός Καρκίνος ταξινομείται σε 5 τύπους (Κατάταξη Borrmann 1926). [56] [57] (πίνακας 2.3) (εικόνα 2.4)

Προχωρημένος Γαστρικός Καρκίνος	
Τύπος I	Πολυποειδής
Τύπος II	Ελκωτικός, χωρίς διήθηση, με παρουσία κρατήρα και υπερυψωμένα χείλη
Τύπος III	Ελκωτικός με υποβλεννογόνια διήθηση
Τύπος IV	Διάχυτος διηθητικός (Πλαστική λινίτιδα)
Τύπος V	Αταξινόμητος

Πίνακας 2.3 : Τύποι προχωρημένου γαστρικού καρκίνου



Εικόνα 2.4 : Μακροσκοπικοί τύποι Προχωρημένου Γαστρικού Καρκίνου. [56]

2.3.2 Μικροσκοπική - Ιστολογική ταξινόμηση

Έχουν προταθεί διάφορες ιστολογικές ταξινομήσεις, όπως των Ming, Carniero, Goseki. [58] [59] [60]

Από τις ευρύτερα χρησιμοποιούμενες είναι η ταξινόμηση κατά Lauren (1965) και της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (WHO). [55] [61] [62]

Τελευταία έχουν προταθεί και νέες ταξινομήσεις βασιζόμενες στην γονιδιακή έκφραση. [63] [64] [65]

A. Ταξινόμηση κατά Lauren (1965) (πίνακας 2.4)

Ταξινόμηση κατά Lauren (1965)	
A.	ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ
B.	ΔΙΑΧΥΤΟΥ ΤΥΠΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ
C.	ΜΙΚΤΑ
D.	ΑΚΑΘΟΡΙΣΤΑ

Πίνακας 2.4 : Ιστολογική ταξινόμηση γαστρικού καρκίνου κατά Lauren (1965)

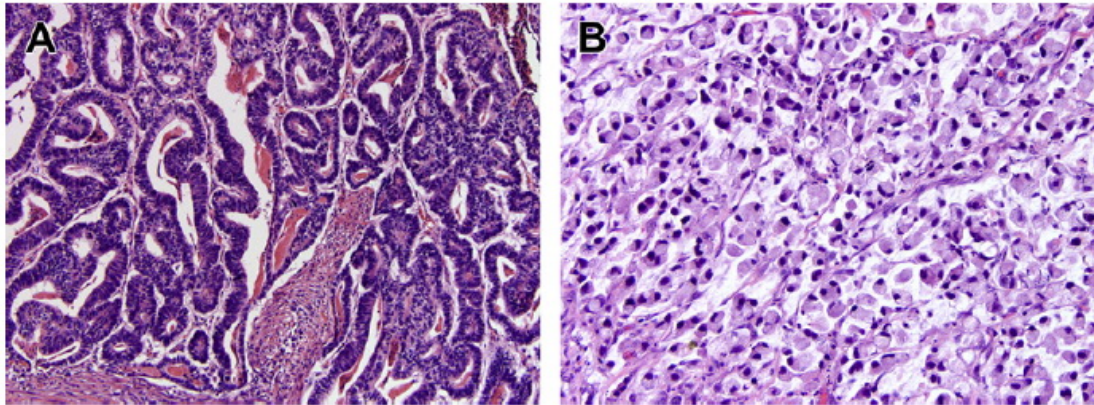
Τα εντερικού τύπου καρκινώματα σχηματίζουν δομές που μοιάζουν με τους αδένες του εντερικού βλεννογόνου. (εικόνα 2.5A) Αν και η συχνότητά τους έχει μειωθεί τελευταία, εξακολουθούν να είναι ο συχνότερος τύπος. [66] Είναι πιο συχνά στους άνδρες (2:1) και εμφανίζονται σε άτομα ηλικίας 55-80 ετών. Σχηματίζονται μετά από μια μακρά προκαρκινωμάτωση κατάσταση όπου παρατηρείται εντερική μεταπλασία του βλεννογόνου του στομάχου.

Τα διαχύτου τύπου από την άλλη, είναι πιο επιθετικά και έχουν χειρότερη πρόγνωση. Συναντιούνται με την ίδια συχνότητα στους άνδρες και στις γυναίκες (1:1) και διαγιγνώσκονται σε μικρότερη ηλικία (40-60 ετών). Τα κύτταρα τους στερούνται συνοχής και διηθούν το τοίχωμα του στομάχου διάχυτα, είτε μεμονωμένα είτε σε μικρές αθροίσεις. (εικόνα 2.5B)

Μια ιστολογική παραλλαγή διαχύτου τύπου είναι το αδενοκαρκίνωμα από κύτταρα δίκην “σφραγιστήρος δακτυλίου”, όπου τα κύτταρα περιέχουν άφθονη κυτταροπλασματική βλέννη που απωθεί τον πυρήνα στην περιφέρεια. Σχετίζονται με

απώλεια έκφρασης της E-Cadherin (HDGC) αλλά όχι με προκαρκινωματώδεις αλλοιώσεις.

Τα μικτά καρκινώματα έχουν χαρακτηριστικά και των δύο τύπων ενώ στα ακαθόριστα συμπεριλαμβάνονται και τα αδιαφοροποίητα. [55] [67] [68] [69]



Εικόνα 2.5 : (A) Εντερικού τύπου όπου φαίνονται οι αδενικοί σχηματισμοί (μεγέθυνση x100) (B) Διαχύτου τύπου με κύτταρα δίκην “σφραγιστήρος δακτυλίου” (μεγέθυνση x200) [70]

B. Ταξινόμηση κατά WHO

Το αδενοκαρκίνωμα αποτελεί το 95% των καρκίνων στομάχου. Σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) τα καρκινώματα του στομάχου ταξινομούνται σε θηλώδη, σωληνώδη, βλενώδη, δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου, μικτά και άλλες πιο σπάνιες μορφές όπως φαίνεται στον πίνακα. [71] [72] (πίνακας 2.5)

Ιστολογική κατάταξη γαστρικών όγκων (WHO) 2000

1)Επιθηλιακοί όγκοι

Ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία - Αδένωμα

Καρκίνωμα

Αδενοκαρκίνωμα

- Εντερικού τύπου
- Διαχύτου τύπου

Θηλώδες αδενοκαρκίνωμα

Σωληνώδες αδενοκαρκίνωμα

Βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα

Καρκίνωμα δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου

Αδενοπλακώδες καρκίνωμα

Πλακώδες καρκίνωμα

Μικροκυτταρικό καρκίνωμα

Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα

Καρκινοειδές (καλά διαφοροποιημένο ενδοκρινές νεόπλασμα)

2)Μη Επιθηλιακοί όγκοι

Λειομύωμα

Νευριλήμωμα

Κοκκιοκυτταρικός όγκος

Γλομαγγείωμα

Λειομυοσάρκωμα

Στρωματικοί όγκοι του γαστρεντερικού σωλήνα

- Καλοήθεις
- Αβέβαιης κακοήθειας
- Κακοήθεις

Σάρκωμα Karosi

Άλλα

Κακοήθη λεμφώματα

- Οριακής ζώνης Β λέμφωμα τύπου MALT
- Λέμφωμα μανδύα
- Διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα
- Άλλα

3)Δευτεροπαθείς όγκοι

Πίνακας 2.5 : Ιστολογική κατάταξη γαστρικών όγκων (WHO) 2000

2.4 ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Μετά τη διάγνωση του καρκίνου του στομάχου ακολουθεί η σταδιοποίηση των ασθενών, έτσι ώστε να λάβουν την κατάλληλη θεραπεία σύμφωνα με το στάδιο της νόσου. Έχουν προταθεί πολλές σταδιοποιήσεις του γαστρικού αδενοκαρκινώματος. Δύο όμως είναι οι πιο αποδεκτές σήμερα και αυτές που χρησιμοποιούνται. Είναι η ταξινόμηση κατά TNM από τη συνεργασία AJCC και UICC που πλέον βρίσκεται στην 7^η αναθεώρηση, που δημοσιεύτηκε το 2009. Η δεύτερη ταξινόμηση είναι η Ιαπωνική. Για να καταστεί εφικτή η ακριβής σταδιοποίηση θα πρέπει να αφαιρούνται και να εξετάζονται παθολογοανατομικά τουλάχιστον 16 λεμφαδένες μαζί με το χειρουργικό παρασκεύασμα, αν και επιθυμητή είναι η εκτομή/αξιολόγηση (≥ 30) λεμφαδένων. [73]

2.4.1 Σταδιοποίηση TNM AJCC/UICC

Επειδή πρόκειται για ένα παθολογικό κυρίως σύστημα σταδιοποίησης, το ακριβές στάδιο TNM του ασθενούς γίνεται γνωστό μόνο μετά την εκτομή. Η **κλινική σταδιοποίηση cTNM** γίνεται πριν την έναρξη της θεραπείας και βασίζεται στα ευρήματα του διαγνωστικού ελέγχου (φυσική εξέταση, εργαστηριακός έλεγχος, απεικονιστικές εξετάσεις, ενδοσκόπηση, EUS, FNA-βιοψία δια λεπτής βελόνης για κυτταρολογικό έλεγχο, βιοψία για ιστολογική επιβεβαίωση, διαγνωστική λαπαροσκόπηση, λήψη περιτοναϊκού εκπλύματος). Έτσι υπολογίζεται το βάθος διήθησης (T), ο αριθμός των διογκωμένων - διηθημένων λεμφαδένων (N), και η ύπαρξη μεταστάσεων (M). Οι πιο συχνές μεταστατικές εστίες ανευρίσκονται στο ήπαρ, στο περιτόναιο και σε απομακρυσμένους λεμφαδένες. Πιο σπάνια, ο γαστρικός καρκίνος, δίνει μεταστάσεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα και στους πνεύμονες. Η διήθηση παρακείμενων οργάνων (όπως το ήπαρ, το εγκάρσιο κόλον, το πάγκρεας, το διάφραγμα) κατά συνέχεια ιστού από μεγάλους όγκους δεν θεωρείται μετάσταση αλλά ταξινομείται ως (T4b). Αντίθετα, η θετική κυτταρολογική εξέταση του περιτοναϊκού υγρού ταξινομείται ως (M1).

Από την άλλη πλευρά η **παθολογική σταδιοποίηση pTNM** στηρίζεται στα κλινικά, χειρουργικά και παθολογοανατομικά ευρήματα. Όσον αφορά τον πρωτοπαθή όγκο (pT1) στο χειρουργικό παρασκεύασμα ελέγχονται τα όρια εκτομής, ο ιστολογικός τύπος, ο βαθμός διαφοροποίησης, η περινευρική διήθηση και η διήθηση λεμφικών αγγείων, όπως και η παρουσία λοίμωξης από *helicobacter pylori*. Για τη σταδιοποίηση (pN) ελέγχεται ο συνολικός αριθμός λεμφαδένων που εξαιρέθηκαν αλλά και το ποσοστό των διηθημένων. Ενώ για τον ορισμό του σταδίου (pM) εξετάζεται μεταστατικός ιστός από άλλα όργανα, από απομακρυσμένους λεμφαδένες ή το περιτοναϊκό υγρό. [4] Τρεις είναι οι κύριοι παθολογοανατομικοί παράγοντες σύμφωνα με τους οποίους μπορούν να ταξινομηθούν οι ασθενείς σε ομάδες με διαφορετικό κίνδυνο σχετιζόμενο με τον καρκίνο:

- το βάθος διήθησης του καρκίνου στο τοίχωμα του στομάχου (T)
- η διήθηση των επιχώριων λεμφαδένων (N)
- και η παρουσία μεταστάσεων (M)

Σύμφωνα με την τελευταία ταξινόμηση TNM (7^η αναθεώρηση 2009) όγκοι που ανευρίσκονται στην γαστροοισοφαγική συμβολή (ΓΟΣ) ή στην καρδιά του στομάχου εντός 5 εκατοστών από την ΓΟΣ ή στον οισοφάγο, ταξινομούνται με το TNM του καρκίνου του οισοφάγου. Όγκοι που βρίσκονται εντός 5 εκατοστών από την ΓΟΣ αλλά δεν επεκτείνονται στον οισοφάγο ταξινομούνται με το TNM του καρκίνου του στομάχου. [74]

T - Πρωτοπαθής Όγκος

- TX** Ο πρωτοπαθής όγκος δεν δύναται να προσδιοριστεί
- To** Δεν υπάρχει ένδειξη πρωτοπαθούς όγκου
- Tis** Καρκίνωμα in situ: ενδοεπιθηλιακό καρκίνωμα χωρίς διήθηση της βασικής μεμβράνης
- T1** Ο όγκος διηθεί τη βασική μεμβράνη, τη βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα ή τον υποβλεννογόνιο χιτώνα
- **T1a** Διήθηση της βασικής μεμβράνης ή την βλεννογόνια μυϊκή στιβάδα
 - **T1b** Διήθηση του υποβλεννογόνιου χιτώνα
- T2** Ο όγκος διηθεί τον μυϊκό χιτώνα
- T3** Ο όγκος διηθεί τον υπορογόνιο χωρίς διήθηση του ορογόνου (σπλαγχνικό περιτόναιο) ή των παρακείμενων δομών
- T4** Ο όγκος διηθεί τον ορογόνο (σπλαγχνικό περιτόναιο) ή παρακείμενες δομές
- **T4a** Ο όγκος διηθεί τον ορογόνο (σπλαγχνικό περιτόναιο)
 - **T4b** Ο όγκος διηθεί παρακείμενες δομές

N - Επιχώριοι λεμφαδένες

- NX** Οι επιχώριοι λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν
- N0** Απουσία μετάστασης στους επιχώριους λεμφαδένες
- N1** Μετάσταση σε 1 έως 2 επιχώριους λεμφαδένες
- N2** Μετάσταση σε 3 έως 6 επιχώριους λεμφαδένες
- N3** Μετάσταση σε 7 ή περισσότερους επιχώριους λεμφαδένες
- **N3a** Μετάσταση σε 7 έως 15 επιχώριους λεμφαδένες
 - **N3b** Μετάσταση σε 16 ή περισσότερους επιχώριους λεμφαδένες

M - Απομακρυσμένες μεταστάσεις

- M0** Δεν παρατηρούνται απομακρυσμένες μεταστάσεις
- M1** Παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

G – Ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης

GX Δεν δύναται να προσδιοριστεί

G1 Καλά διαφοροποιημένος

G2 Μέτρια διαφοροποιημένος

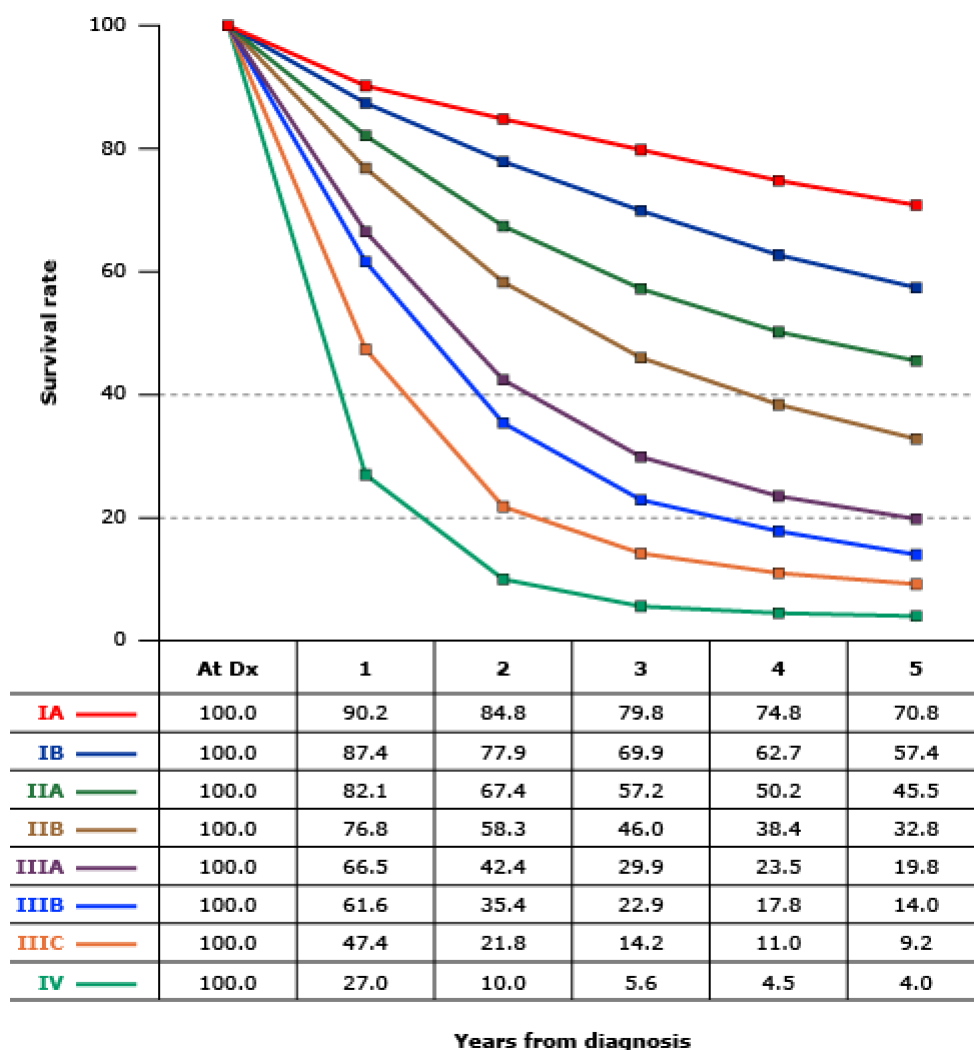
G3 Φτωχά διαφοροποιημένος

G4 Αδιαφοροποίητος

Στάδια γαστρικού καρκίνου			
Στάδιο 0	Tis	N0	M0
Στάδιο IA	T1	N0	M0
Στάδιο IB	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
Στάδιο IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
Στάδιο IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
Στάδιο IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
Στάδιο IIIB	T4b	N0 ή N1	M0
	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
Στάδιο IIIC	T4b	N2 ή N3	M0
	T4a	N3	M0
Στάδιο IV	Οποιοδήποτε T	Οποιοδήποτε N	M1

Πίνακας 2.6 : Στάδια γαστρικού καρκίνου

Η συνολική πενταετής επιβίωση είναι περίπου 15 - 20%, ενώ όταν η νόσος παραμένει εντοπισμένη στον στόμαχο είναι περίπου 55%. Η διήθηση των επιχώριων λεμφαδένων μειώνει την πενταετή επιβίωση στο 20% περίπου. [74] (εικόνα 2.6)

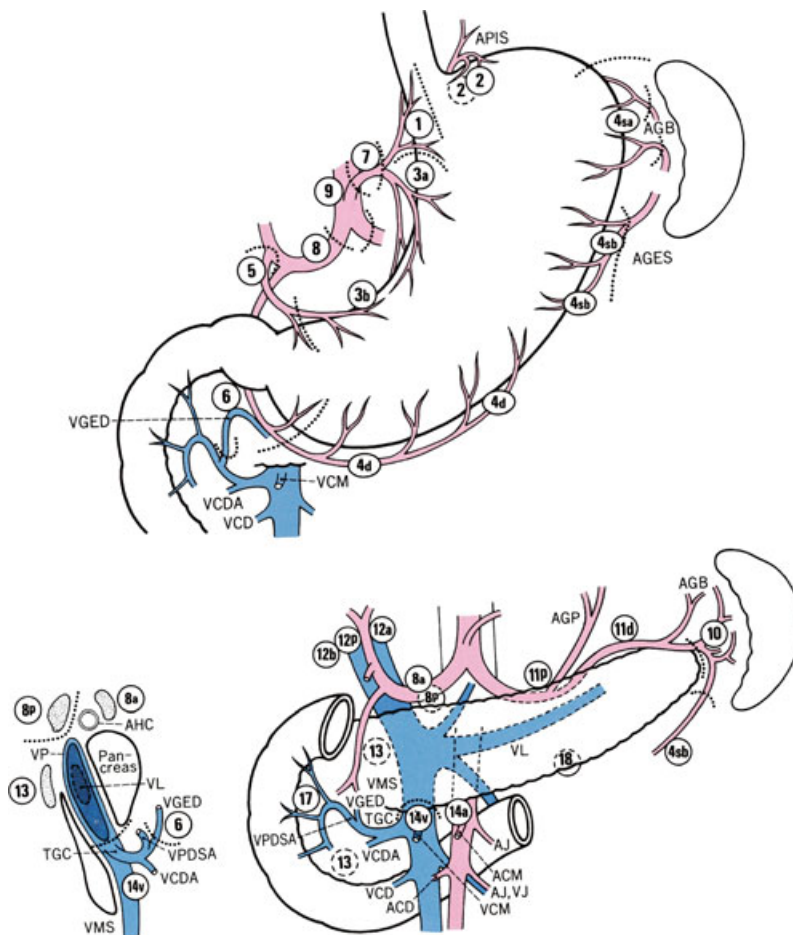


Εικόνα 2.6 : Ποσοστά επιβίωσης σε 10601 χειρουργημένους γαστρικούς καρκίνους. SEER 1973-2005. Στάδιο IA : 1194, Στάδιο IB: 655, Στάδιο IIA: 1161, Στάδιο IIB: 1195, Στάδιο IIIA: 1031, Στάδιο IIIB: 1660, Στάδιο IIIC: 1053, Στάδιο IV: 6148 [74]

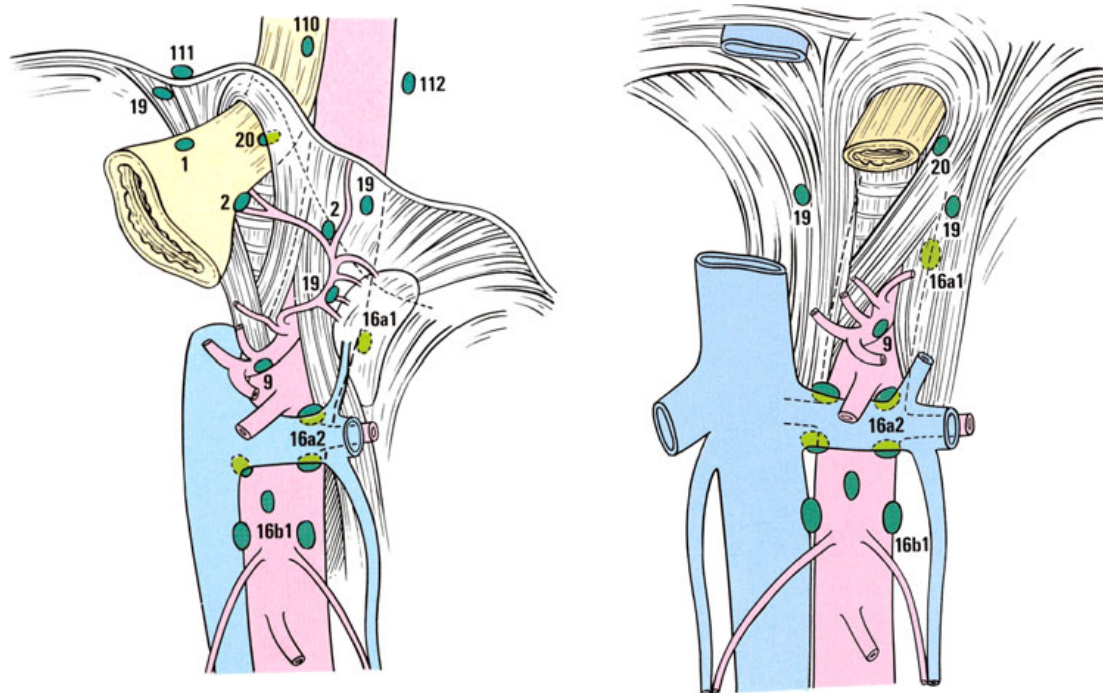
2.4.2 Ιαπωνική κατάταξη από την JRS GC (Japanese Society for gastric cancer)

Η Ιαπωνική κατάταξη είναι περισσότερο λεπτομερής και περιλαμβάνει στοιχεία όπως [56]:

- το τριτημόριο του στομάχου στο οποίο βρίσκεται ο όγκος (Άνω – Μέσο - Κάτω)
- τη θέση του όγκου σε σχέση με τα τόξα (Ελάσσων - Μείζον) και
- τις λεμφαδενικές ομάδες που διηθούνται, το οποίο είναι και το βασικό χαρακτηριστικό της κατάταξης και βασίζεται στην υπόθεση ότι ο εκτεταμένος λεμφαδενικός καθαρισμός πέραν του επιπέδου διήθησης μπορεί να παρατείνει την επιβίωση. (εικόνα 2.7, 2.8) (πίνακας 2.7)



Εικόνα 2.7 : Λεμφαδενικές ομάδες στομάχου κατά την Ιαπωνική σταδιοποίηση [56]



Εικόνα 2.8 : Λεμφαδενικές ομάδες στομάχου κατά την Ιαπωνική σταδιοποίηση [56]

Σταθμοί περιγαστρικών λεμφαδένων		Σταθμοί εξωγαστρικών λεμφαδένων	
Ομάδες	Εντόπιση	Ομάδες	Εντόπιση
1	Δεξιοί παρακαρδιακοί	7	Κατά μήκος της αριστερής γαστρικής αρτηρίας
2	Αριστεροί παρακαρδιακοί	8a	Κατά μήκος της κοινής ηπατικής αρτηρίας (πρόσθια-άνω ομάδα)
3a	Αριστερών γαστρικών αγγείων	8p	Κατά μήκος της κοινής ηπατικής αρτηρίας (οπίσθια ομάδα)
3b	Δεξιών γαστρικών αγγείων	9	Γύρω από την κοιλιακή αρτηρία
4sa	Βραχέων γαστρικών αγγείων	10	Πύλης του σπλήνα
4sb	Αριστερών γαστροεπιπλοϊκών αγγείων	11p	Κατά μήκος του εγγύς τμήματος της σπληνικής αρτηρίας
4sd	Δεξιών γαστροεπιπλοϊκών αγγείων	11d	Κατά μήκος του άπω τμήματος της σπληνικής αρτηρίας
5	Υπερπυλωρικοί	12a	Ηπατοδωδεκαδακτυλικού συνδέσμου (κατά μήκος της ηπατικής αρτηρίας)
6	Υποπυλωρικοί	12b	Ηπατοδωδεκαδακτυλικού συνδέσμου (κατά μήκος του χοληδόχου πόρου)
		12p	Ηπατοδωδεκαδακτυλικού συνδέσμου (πίσω από την πυλαία φλέβα)
		13	Οπίσθιας επιφάνειας της κεφαλής του παγκρέατος
		14n	Κατά μήκος της άνω μεσεντερίου φλέβας
		14a	Κατά μήκος της άνω μεσεντερίου αρτηρίας
		15	Κατά μήκος των μέσων κολικών αγγείων
		16a1	Αορτικού χιάσματος
		16a2	Γύρω από την κοιλιακή αορτή (από το άνω χείλος της κοιλιακής αρτηρίας έως το κάτω χείλος της αριστερής νεφρικής φλέβας)
		16b1	Γύρω από την κοιλιακή αορτή (από το κάτω χείλος της αριστερής νεφρικής φλέβας έως το κάτω χείλος της κάτω μεσεντερίου αρτηρίας)
		16b2	Γύρω από την κοιλιακή αορτή (από το κάτω χείλος της μεσεντερίου αρτηρίας έως το διχασμό της αορτής)
		17	Πρόσθιας επιφάνειας κεφαλής του παγκρέατος
		18	Κατά μήκος του κάτω χείλους του παγκρέατος
		19	Υποδιαφραγματικοί
		20	Στο ύψος του οισοφαγικού τμήματος του διαφράγματος
		110	Παραοισοφαγικοί στο κατώτερο μεσοθωράκιο
		111	Υπερδιαφραγματικοί
		112	Οπίσθιου μεσοθωρακίου

Πίνακας 2.7 : Λεμφαδενικές ομάδες στομάχου κατά την Ιαπωνική σταδιοποίηση [56]

2.4.3 Ταξινόμηση R (υπολειπόμενη νόσος)

Περιγράφηκε αρχικά από τους Hermanek και Witteking το 1994, και χρησιμοποιείται για να περιγράψει την ποσότητα του υπολειπόμενου όγκου μετά την εκτομή και καθορίζεται μετά από την παθολογοανατομική αξιολόγηση των ορίων εκτομής. (πίνακας 2.7)

R0	Πλήρης εκτομή, χωρίς υπολειμματική νόσο
R1	Παρουσία μικροσκοπικής υπολειμματικής νόσου
R2	Παρουσία μακροσκοπικής υπολειμματικής νόσου

Πίνακας 2.7 : Ταξινόμηση R (υπολειπόμενη νόσος)

Μακροχρόνια επιβίωση έχουν μόνο οι ασθενείς που υποβάλλονται σε R0 εκτομή, γι' αυτό είναι πολύ σημαντικό να καταβάλλεται σημαντική προσπάθεια για αποφυγή R1 και R2 εκτομής. [75]

2.5 ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Το είδος της θεραπείας είναι ένας πολύ σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για τον καρκίνο του στομάχου. Οι ασθενείς που δεν χειρουργούνται έχουν κακή πρόγνωση, με την επιβίωση να κυμαίνεται από 3 έως 11 μήνες. Το βάθος διήθησης του γαστρικού τοιχώματος (T) σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση, αλλά η διήθηση των επιχώριων λεμφαδένων (N) ίσως είναι ο πιο ισχυρός προγνωστικός παράγοντας. Στους ασθενείς που υποβάλλονται σε πλήρη εκτομή, οι παράγοντες που επηρεάζουν την πρόγνωση είναι η θέση του όγκου στον στόμαχο, ο ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης και η λεμφαγγειακή διήθηση. Οι όγκοι του άνω τριτημορίου έχουν χειρότερη πρόγνωση. Η ασιατική φυλή, το γυναικείο φύλο, η νεαρή ηλικία, η ανταπόκριση στην νεοεπικουρική θεραπεία και η υψηλή μικροδορυφορική αστάθεια (MSI-H) αποτελούν παράγοντες καλύτερης πρόγνωσης ενώ αυξημένοι καρκινικοί δείκτες CEA και Ca 19-9

προεγχειρητικά είναι κακοί προγνωστικοί παράγοντες. Αν ο όγκος είναι HER2 θετικός, μπορεί να ληφθεί υπόψιν και η HER2 στοχευμένη θεραπεία. [74]

2.6 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Ο γαστρικός καρκίνος, εξαιτίας της απουσίας παθολογικών συμπτωμάτων, διαγιγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο, μη επιτρέποντας την διενέργεια θεραπευτικών μεθόδων με σκοπό την ίαση του ασθενούς. Για την αύξηση της επιβίωσης είναι απαραίτητο η διάγνωση να γίνεται σε πρώιμα στάδια, το οποίο μπορεί να επιτευχθεί μόνο όταν υπάρχει υψηλός δείκτης υποψίας. [76] [77]

Επι υποψίας λοιπόν, ο διαγνωστικός έλεγχος θα πρέπει να περιλαμβάνει :

- 1) ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ : Τα περισσότερα κλινικά σημεία όπως η ψηλάφηση ενδοκοιλιακής μάζας, σημείο Virchow's, Sister Mary Joseph's, Blumer's, ασκίτης και διογκωμένο ήπαρ ανευρίσκονται σπανίως και είναι ενδεικτικά προχωρημένης νόσου. [76] [77]
- 2) ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ : Συνήθως είναι φυσιολογικές, εκτός από τα προχωρημένα στάδια όπου μπορεί να υπάρχει μικρή σιδηροπενική αναιμία από αιμορραγία του όγκου ή διαταραχές της ηπατικής βιοχημείας λόγω ηπατικών μεταστάσεων. Επίσης κάποιοι καρκινικοί δείκτες όπως το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), η γλυκοπρωτεΐνη CA 125 και τα αντιγόνα CA 19-9 και CA 72-4 μπορεί να είναι αυξημένα αλλά λόγω χαμηλής ειδικότητας και ευαισθησίας δεν χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του γαστρικού καρκίνου. [78] [79] [80] Από την άλλη έχει διαπιστωθεί σε αρκετές μελέτες ότι η προεγχειρητική αύξηση των καρκινικών δεικτών είναι ανεξάρτητος δείκτης κακής πρόγνωσης ενώ η πτώση των επιπέδων CEA και CA 125 μπορεί να σχετίζεται με ανταπόκριση στην προεγχειρητική θεραπεία. [81] [82] [83]

Τέλος μερικοί γαστρικοί καρκίνοι παράγουν υψηλές ποσότητες AFP, όπως ο ηπατοειδής υπότυπος πού ιστολογικά μοιάζει με τον ηπατοκυτταρικό καρκίνο και είναι επιθετικοί με κακή πρόγνωση. [84] [85] [86] [87]

- 3) ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ : Γίνεται συνήθως με βάριο και με τη μέθοδο της διπλής σκιαγράφησης. Με την τεχνική αυτή μπορούν να εντοπιστούν τα κακοήθη γαστρικά έλκη, οι διηθητικές αλλοιώσεις και μερικοί πρώιμοι γαστρικοί καρκίνοι. Ωστόσο, τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα μπορούν να φτάσουν το 50% και ιδίως στον "early gastric cancer" η ευαισθησία είναι πολύ χαμηλή (14%). Γι' αυτό προτιμάται η ενδοσκόπηση ανώτερου πεπτικού ως πρώτη διαγνωστική μέθοδο όταν υπάρχει υπόνοια γαστρικού καρκίνου. [88] [89] Ο όγκος με την τεχνική αυτή απεικονίζεται ως πολυποειδής μάζα, κρατήρας έλκους, ή ως μη διατάσιμος στόμαχος (στην πλαστική λινίτιδα όπου είναι και η μόνη περίπτωση που η μελέτη με βάριο υπερέχει της γαστροσκόπησης). Τέλος, τα κακοήθη έλκη, ακτινολογικώς είναι μεγαλύτερα από 1 cm, έχουν ακανόνιστες τις πτυχές του βλεννογόνου και βρίσκονται μέσα σε μάζα. [77]
- 4) ΕΝΔΟΣΚΟΠΗΣΗ ΑΝΩΤΕΡΟΥ ΠΕΠΤΙΚΟΥ : Αποτελεί τη διαγνωστική μέθοδο εκλογής. Επιτρέπει την αναγνώριση, τη λήψη βιοψιών της ύποπτης αλλοίωσης αλλά και την παρακολούθηση της βλάβης. Η λήψη μιας μόνο βιοψίας έχει ευαισθησία 70% στη διάγνωση του γαστρικού καρκίνου ενώ η λήψη 7, από τα όρια και τη βάση του έλκους, την αυξάνουν σε ποσοστό μεγαλύτερο του 98%. Ο μεγάλος αριθμός βιοψιών είναι απαραίτητος κυρίως στις μικρές βλάβες που έχουν και υψηλότερη πιθανότητα ίασης. Η πρώιμη διενέργεια γαστροσκόπησης σε ασθενείς με γαστρεντερικές ενοχλήσεις σχετίζεται με υψηλότερο ποσοστό ανίχνευσης του πρώιμου καρκίνου του στομάχου. Περιορισμός της διαγνωστικής της ακρίβειας παρατηρείται στον πρώιμο γαστρικό καρκίνο, στους όγκους της καρδιοοισοφαγικής συμβολής και στους καρκίνους διάχτου τύπου. Ειδικά στους τελευταίους (πλαστική λινίτιδα) που διηθούν τον υποβλεννογόνο και τον μυϊκό χιτώνα, οι επιπολής βιοψίες είναι συνήθως ψευδώς αρνητικές γι' αυτό και είναι αναγκαία η υποβλεννογόνια λήψη. [77] [90] [91]
- 5) ΕΝΔΟΣΚΟΠΙΚΗ ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΑ (EUS) : Είναι χαμηλού κινδύνου εξέταση, αν και πιο επεμβατική από την CT, και το ποσοστό των σοβαρών επιπλοκών είναι χαμηλό (0,3 %). [92] Έχει ένδειξη στην αξιολόγηση του

βάθους διήθησης του όγκου (T) αλλά και των περιγαστρικών λεμφαδένων, κυρίως για όγκους (T1). [93] Η διαγνωστική του ακρίβεια εξαρτάται από τον χειριστή και κυμαίνεται από 57% έως 88% όσον αφορά τη σταδιοποίηση T και από 30% έως 90% για την σταδιοποίηση N. [94] Μπορεί να βοηθήσει στην διαφοροποίηση των όγκων T3 και T4 αλλά θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους σταδιοποίησης. [94] [95] Το EUS είναι πολύ χρήσιμο στον εντοπισμό και την αξιολόγηση του πρώιμου γαστρικού καρκίνου πριν υποβληθούν οι ασθενείς σε EMR (ενδοσκοπική βλεννογόνια εκτομή) αλλά και στην επιλογή των ασθενών που θα λάβουν προεγχειρητική χημειοθεραπεία (στάδιο > T2). Πολλές εργασίες έχουν δείξει ότι ο EUS παρέχει πιο ακριβής διάγνωση του σταδίου (T) απ' ό τι η CT αν και οι νεότερες τεχνικές CT και MRI ίσως προσφέρουν παρόμοια αποτελέσματα. [96] [97] Αντίθετα η ακρίβεια που προσφέρει στη σταδιοποίηση (N) είναι ελαφρώς υψηλότερη σε σχέση με την CT, η οποία όμως αυξάνεται όταν συνοδεύεται από βιοψία δια λεπτής βελόνης (FNA) υπό καθοδήγηση EUS.

- 6) ΑΞΟΝΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ (CT) : Είναι η πιο συχνή εξέταση στην προεγχειρητική σταδιοποίηση. Η συνολική ακρίβεια της στον καθορισμό του σταδίου T είναι από 43% έως 82%. Χρησιμοποιείται κυρίως για την διάγνωση απομακρυσμένων μεταστάσεων και ασκίτικου υγρού και βοηθάει ώστε η συγκεκριμένη κατηγορία ασθενών να αποφύγει ένα περιττό χειρουργείο. Ανάμεσα στους περιορισμούς της είναι ότι δεν μπορεί να διαγνώσει εστίες <5mm και να αξιολογήσει με ακρίβεια το βάθος διήθησης T, το οποίο συνήθως υποεκτιμάται. [98] [99] [100] Σε ένα ποσοστό ασθενών 20% με 30% με αρνητική CT θα βρεθεί διεγχειρητικά περιτοναϊκή νόσος. [101] [102]
- 7) ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ (MRI) : Τα νεότερα μηχανήματα υπερτερούν της CT στην διαγνωστική ακρίβεια.
- 8) PET-CT (ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ CT ΚΑΙ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΠΟΖΙΤΡΟΝΙΩΝ) : Το PET από μόνο του έχει υψηλό ποσοστό ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων διότι πολλοί ιστολογικοί τύποι όπως ο διάχυτου τύπου, τα βλεννώδη και τα δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου δεν προσλαμβάνουν το ραδιοφάρμακο. [103] [104] [105] Επίσης η ευαισθησία της στην διάγνωση περιτοναϊκής καρκινωμάτωσης είναι 50%, γεγονός που σημαίνει ότι δεν μπορεί να αντικαταστήσει την διαγνωστική λαπαροσκόπηση. Από την άλλη όμως ο συνδυασμός PET-CT έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από την CT στον εντοπισμό

των απομακρυσμένων μεταστάσεων και μεγαλύτερη ακρίβεια γενικά στην προεγχειρητική σταδιοποίηση. [106] [107] [108]

9) ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΛΑΠΑΡΟΣΚΟΠΗΣΗ : Η σημασία της έγκειται στο γεγονός ότι εντοπίζει περιτοναϊκές εμφυτεύσεις που δεν μπορούν να διαγνωστούν με άλλες μεθόδους, με αποτέλεσμα την αποφυγή μη αναγκαίας λαπαροτομίας. Το 50% των ασθενών με προχωρημένη νόσο (T4) με την μέθοδο αυτή μπορεί να αποφύγει το χειρουργείο. [109] [110] Η παράλληλη χρήση της λαπαροσκοπικής υπερηχοτομογραφίας πετυχαίνει μεγαλύτερη ακρίβεια στην ανίχνευση υποκλινικών ηπατικών και λεμφαδενικών μεταστάσεων.

10) ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΚΟΥ ΕΚΠΛΥΜΑΤΟΣ (ΚΑΠΕ) : Η ΚΑΠΕ που λαμβάνεται κατά την διαγνωστική λαπαροσκόπηση δύναται να παρέχει επιπρόσθετες πληροφορίες βοηθώντας στην επιλογή της κατάλληλης θεραπείας. [76] Η θετική κυτταρολογική εξέταση θεωρείται νόσος σταδίου M1 και σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση και υψηλό ποσοστό υποτροπής μετά από χειρουργείο. [111] [112] [113] Τέλος στους ασθενείς που λαμβάνουν προεγχειρητική χημειοθεραπεία έχει ένδειξη η διαγνωστική λαπαροσκόπηση με ταυτόχρονη ΚΑΠΕ. . [109]

2.7 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

2.7.1 Χειρουργική Θεραπεία

Η πλήρης χειρουργική εκτομή του όγκου με λεμφαδενικό καθαρισμό αντιπροσωπεύει τη μόνη μέθοδο που προσφέρει μακροχρόνια επιβίωση και σε περιπτώσεις πρώιμου γαστρικού καρκίνου ίσως και ίαση . Σε ποσοστό > 50% όμως, κατά τη διάγνωση ο γαστρικός καρκίνος είναι ήδη ανεγχείρητος και η χειρουργική επέμβαση έχει μόνο παρηγορητικό χαρακτήρα. [77] Κριτήρια ανεγχειρησιμότητας θεωρούνται η ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων, θετική κυτταρολογική του περιτοναϊκού υγρού, η διήθηση των μεγάλων αγγείων (αορτή, ηπατική αρτηρία, αλλήρειος τρίποδας), η διήθηση της ρίζας του μεσεντερίου και των παραορτικών λεμφαδένων. [114] Το είδος της χειρουργικής τεχνικής εξαρτάται από την ανατομική θέση του όγκου, το κλινικό στάδιο, τον ιστολογικό τύπο και την κλινική κατάσταση του ασθενούς. Το είδος της γαστρεκτομής και η έκταση του λεμφαδενικού καθαρισμού είναι τα στοιχεία που

διαφοροποιούν τις διάφορες χειρουργικές τεχνικές. Ο πρωταρχικός στόχος του χειρουργείου είναι να επιτευχθεί ριζική εκτομή με ελεύθερα χειρουργικά όρια (R0 εκτομή), το οποίο μπορεί να γίνει με ολική ή υφολική γαστρεκτομή. Καμία τεχνική δεν υπερτερεί της άλλης σύμφωνα με προοπτικές τυχαιοποιημένες μελέτες όσον αφορά την επιβίωση των ασθενών. Λόγω του ότι το αδενοκαρκίνωμα στομάχου έχει την τάση να διασπείρεται υποβλεννογονίως συνιστάται η επίτευξη υγιών ορίων εκτομής τουλάχιστον 5 εκατοστών. [76] Για όγκους Tis ή T1a συνιστάται EMR (ενδοσκοπική βλεννογόνια εκτομή), για όγκους T1b έως T3 γαστρεκτομή (περιφερική, υφολική, ολική) με ελεύθερα όρια εκτομής ≥ 4 cm, ενώ για T4 en block εκτομή και των οργάνων που διηθούνται κατά συνέχεια ιστού. [115] [116] Σε ασθενείς με προχωρημένη νόσο, η χειρουργική εκτομή θα πρέπει να επιφυλάσσεται μόνο σε περιπτώσεις αιμορραγίας ή απόφραξης για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων, και δεν θα πρέπει να περιλαμβάνει λεμφαδενικό καθαρισμό. [117] [118] Η γαστρεκτομή στον καρκίνο του στομάχου πρέπει να περιλαμβάνει και λεμφαδενικό καθαρισμό. Η εκτομή ≥ 15 λεμφαδένων έχει αποδειχτεί από αναδρομικές μελέτες πώς επηρεάζει θετικά την επιβίωση των ασθενών με προχωρημένο γαστρικό καρκίνο. [119] [120] Παρόλα αυτά, η έκταση του λεμφαδενικού καθαρισμού παραμένει αμφιλεγόμενη. Ο λεμφαδενικός καθαρισμός ανάλογα με την έκταση του διακρίνεται σε [114]:

- D0 : Ατελής εκτομή των περιγαστρικών λεμφαδένων (σταθμοί 1 έως 6), συνήθως σε παρηγορικές εκτομές
- D1 : αφορά την εκτομή των λεμφαδενικών ομάδων του μείζονος και ελάσσονος επιπλόου (δεξιοί και αριστεροί παρακαρδιακοί, κατά μήκος του μείζονος και ελάσσονος τόξου, υπερπυλωρικοί κατά μήκος της δεξιάς γαστρικής αρτηρίας και υποπυλωρικοί)
- D2 : περιλαμβάνει τις ομάδες του D1 μαζί με τους λεμφαδένες της αριστερής γαστρικής αρτηρίας, της κοινής ηπατικής, του αλλήρειου τρίποδα, της σπληνικής αρτηρίας και των πυλών του σπλήνα)

Σε διάφορες ιαπωνικές αναδρομικές μελέτες έχει αποδειχτεί βελτίωση στην επιβίωση μετά από εκτεταμένο D2 λεμφαδενικό καθαρισμό, το οποίο όμως δεν έχει αποδειχτεί σε προοπτικές τυχαιοποιημένες μελέτες στη Δύση [119] [121] [122]. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του NCCN (National Comprehensive Cancer Network) σε ασθενείς με τοπικά εξαιρεσιμό καρκίνο στομάχου συστήνεται γαστρεκτομή με D1 ή

τροποποιημένο D2 λεμφαδενικό καθαρισμό με εκτομή ≥ 15 λεμφαδένων [119] [123] [124] [125]

2.7.2 Επικουρική

Δυστυχώς, ακόμα και οι ασθενείς που υποβάλλονται σε R0 εκτομή έχουν υψηλό ποσοστό υποτροπών μετά το χειρουργείο. Τοπικές υποτροπές ή απομακρυσμένες μεταστάσεις εμφανίζονται συνήθως εντός των πρώτων δύο ετών από την επέμβαση. Για αυτό ακριβώς τον λόγο υπήρξε έντονο ενδιαφέρον στην εφαρμογή επικουρικών θεραπειών σε συνδυασμό με τη γαστρεκτομή. [76] Τυχαιοποιημένες μελέτες που διερεύνησαν τα αποτελέσματα της μετεγχειρητικής χημειοθεραπείας από μόνη της στην επιβίωση των ασθενών, μετά από θεραπευτική εκτομή, δεν παρείχαν σταθερά αποτελέσματα. [126]. Αντίθετα η συνδυασμένη χημείο-ακτινοθεραπεία μετεγχειρητικά κατέδειξε βελτίωση ως προς την συνολική επιβίωση και αποτελεί την καθιερωμένη θεραπευτική παρέμβαση στις ΗΠΑ [127].

Τα τελευταία χρόνια, επίσης, έχουν εγκριθεί διάφορες στοχευμένες θεραπείες όπως το trastuzumab (σε ασθενείς HER2+), το ramucirumab (αντισώματα άντι- VEGFR-2), και το pembrolizumab (αντισώματα άντι- PD-1), για τη θεραπεία του προχωρημένου ή του μεταστατικού γαστρικού καρκίνου. Μια ποικιλία ερευνητικών παραγόντων που στοχεύουν τον EGFR και τον c-MET έχουν επίσης δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε ασθενείς με προχωρημένο ή μεταστατικό καρκίνο του στομάχου. Ωστόσο δεν είναι ακόμα διαθέσιμα τα οριστικά αποτελέσματα από αυτές τις μελέτες. [114]

2.7.3 Νεοεπικουρική

Τα σημαντικά οφέλη της νεοεπικουρικής χημείο-ακτινοθεραπείας που διαπιστώθηκαν στην θεραπεία του καρκίνου του ορθού και του οισοφάγου, προκάλεσαν μεγάλο ενδιαφέρον στην εφαρμογή της και στον γαστρικό καρκίνο. Τα πλεονεκτήματα αυτά, περιλαμβάνουν τη μειωμένη διασπορά του όγκου κατά τη χειρουργική επέμβαση, αλλά και την εκτίμηση της ευαισθησίας του όγκου στο συγκεκριμένο χημειοθεραπευτικό σχήμα. Αν ο όγκος ανταποκρίνεται, το ίδιο σχήμα μπορεί να συνεχιστεί μετεγχειρητικά. Άλλο πλεονέκτημα είναι η δυναμική υποσταδιοποίηση του όγκου λόγω συρρίκνωσης του. Επίσης προεγχειρητικά υπάρχει καλύτερη ανοχή των

ασθενών στη χημειοθεραπεία και αποφεύγονται οι καθυστερήσεις λόγω των μετεγχειρητικών επιπλοκών. Υπάρχουν όμως και μειονεκτήματα όπως η καθυστέρηση του χειρουργείου που μπορεί να μετατρέψει τον όγκο σε ανεγχείρητο ή ακόμα και η πιθανή τοξικότητα της χημειοθεραπείας που μπορεί να αυξήσει τη νοσηρότητα του χειρουργείου. Έτσι λοιπόν έγιναν πολλές τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες, σε διάφορες χώρες, στις οποίες δοκιμάστηκε επικουρική χημειοθεραπεία ή χημειο-ακτινοθεραπεία προεγχειρητικά αλλά και περιεγχειρητικά. Οι μελέτες αυτές έδειξαν βελτίωση στη συνολική επιβίωση των ασθενών αλλά και της ελεύθερης νόσου περιόδου κυρίως σε μη εκτεταμένους όγκους. [76] [126] [128]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΚΑΣΠΑΣΕΣ

3.1 ΑΠΟΠΤΩΣΗ

Ο γαστρικός καρκίνος είναι ένα από τα μείζονα προβλήματα υγείας. Αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη αιτία θανάτου από νεοπλασία παγκοσμίως, παρά το γεγονός ότι δεν είναι παρά ο τέταρτος σε συχνότητα διαγνώσεων καρκίνος. Η πρόγνωση είναι πτωχή διότι τα περισσότερα περιστατικά διαγιγνώσκονται σε προχωρημένο στάδιο, λόγω των άτυπων συμπτωμάτων, αλλά και στο ότι οι θεραπευτικές μέθοδοι είναι περιορισμένες και μη αποτελεσματικές [129]

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην κατανόηση ενός μεγάλου αριθμού κρίσιμων οδών που εμπλέκονται στην ανάπτυξη του καρκίνου. Αυτή η πρόοδος έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη μοριακά στοχευμένων θεραπειών που στοχεύουν παράγοντες που επάγουν την απόπτωση. Οι λειτουργικοί γενετικοί πολυμορφισμοί των γονιδίων που ρυθμίζουν την απόπτωση, όπως των κασπασών, φαίνεται να αυξάνουν την πιθανότητα ανάπτυξης κακοηθειών. Όσον αφορά το γαστρικό καρκίνο έχουν γίνει περιορισμένες μελέτες. [130] [131]

Οι πολυκύτταροι οργανισμοί χρησιμοποιούν δύο κύριους μηχανισμούς κυτταρικού θανάτου : την νέκρωση και την απόπτωση. [132] Η νέκρωση μπορεί να προκληθεί όταν ένα κύτταρο υποστεί ένα ισχυρό σοκ, όπως μετά από ισχαιμία, από ακραία θερμοκρασία ή από ένα μηχανικό τραύμα. Είναι μη αναστρέψιμη βλάβη, με καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης, απελευθέρωση στοιχείων από το κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα, και έκκριση κυτταροκινών με αποτέλεσμα την επαγωγή μιας φλεγμονώδους αντίδρασης. [133]

Η απόπτωση είναι μια μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Αποτελεί μία ενεργειακά εξαρτώμενη, ελεγχόμενη και επιλεκτική φυσιολογική διεργασία, με σημαντικό ρόλο στην αντικατάσταση των υπεράριθμων και ελαττωματικών κυττάρων. Συμβαίνει υπό κανονικές φυσιολογικές συνθήκες αλλά προκαλείται και από διάφορες παθολογίες. Ρυθμίζεται από φυσιολογικούς και γενετικούς παράγοντες και στους υγιείς ιστούς έχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη, στη μορφογένεση, στο ρυθμό

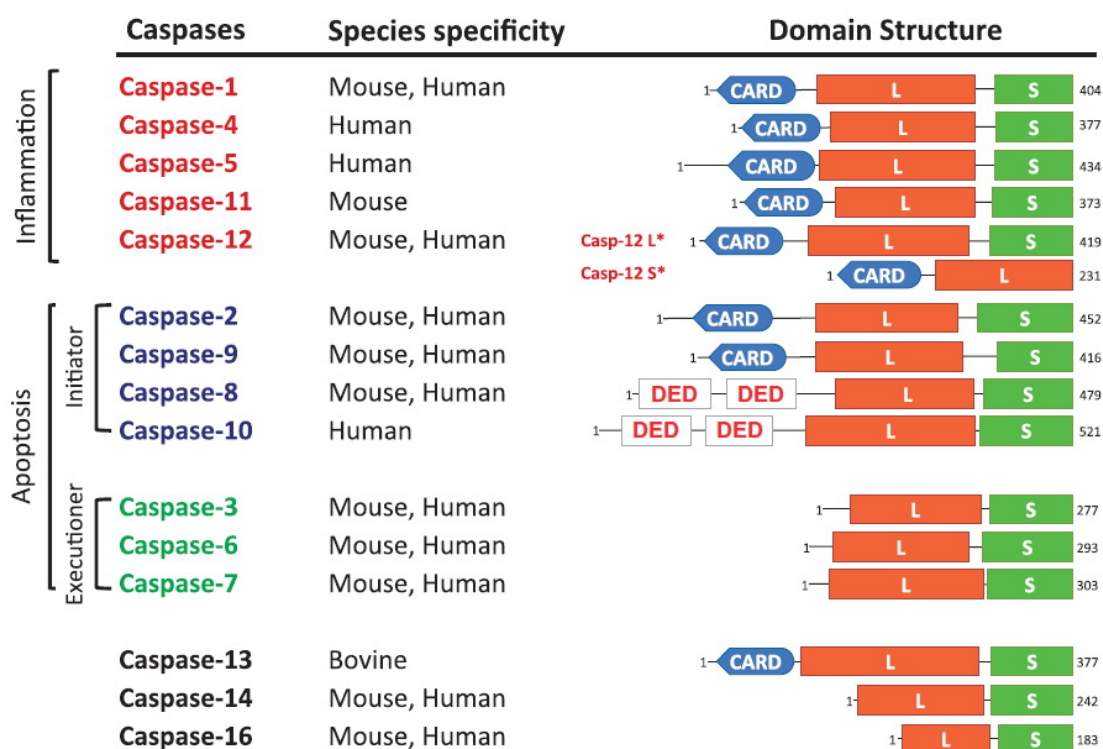
αντικατάστασης των κυττάρων, στην ορμονοεξαρτώμενη ατροφία οργάνων και στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. [134]

Τα αποπτωτικά κύτταρα διακρίνονται από μία σειρά μορφολογικών χαρακτηριστικών. Καταρχήν η πυρηνική χρωματίνη συμπυκνώνεται και συσσωματώνεται σε πυκνές μάζες οι οποίες προσκολλώνται στην πυρηνική μεμβράνη. Το DNA κατακερματίζεται. Χάνονται εξειδικευμένες δομές της κυτταρικής μεμβράνης, όπως οι μικρολάχνες, το κυτταρόπλασμα συρρικνώνεται και σχηματίζει προεκβολές (blebs), ενώ τεμαχίζεται και ο πυρήνας. Ακολουθεί ο κατακερματισμός του κυττάρου σχηματίζοντας πολυάριθμα αποπτωτικά σωματίδια που περικλείονται από κυτταρική μεμβράνη τα οποία φαγοκυτταρώνονται από μακροφάγα ή δενδριτικά κύτταρα. Έτσι τα κύτταρα εξαφανίζονται χωρίς την πρόκληση φλεγμονώδους αντίδρασης, σε αντίθεση με την διαδικασία της νέκρωσης. [135] [136] [137]

3.2 ΚΑΣΠΑΣΕΣ – ΔΟΜΗ

Οι κασπάσες είναι μία ομάδα κυστεϊνικών πρωτεασών, οι οποίες βρίσκονται στα κύτταρα ως ανενεργά πρόδρομα μόρια (προκασπάσες). Ενεργοποιούνται με πρωτεόλυση μετά από διάφορα σήματα που επάγουν την απόπτωση. Τα μόρια των προκασπασών αποτελούνται από τρεις περιοχές : μία αμινοτελική πρωταρχική περιοχή, μία μεγάλη υπομονάδα (~20 KDa) και μία μικρή υπομονάδα (~ 10 KDa). (εικόνα 3.1) Το πρώτο στάδιο της ενεργοποίησης τους είναι ο ομοδιμερισμός. Εν συνεχεία, με πρωτεολυτικό μηχανισμό απομακρύνεται η αμινοτελική πρωταρχική περιοχή και διαχωρίζεται η μικρή από την μεγάλη υπομονάδα. Έτσι δημιουργείται το ενεργό ένζυμο, το οποίο είναι ένα ετεροτετραμερικό σύμπλεγμα που αποτελείται από δύο μικρές και δύο μεγάλες υπομονάδες. [138] [139] Οι κασπάσες διαφέρουν μεταξύ τους στο μήκος και την αλληλουχία αμινοξέων του αμινοτελικού άκρου (-NH₂), το οποίο μπορεί να είναι είτε βραχύ (20-30 αμινοξέα) είτε μακρύ. Τα μακριά πρωταρχικά αμινοτελικά τμήματα (πάνω από 90 αμινοξέα) περιέχουν μία ή δύο περιοχές απαραίτητες για την αλληλεπίδραση με συγκεκριμένα πρωτεϊνικά μόρια. Αυτές οι περιοχές περιλαμβάνουν θέσεις δέσμευσης στο μόριο της κασπάσης (caspase recruitment domains - CARDS) και θέσεις που προκαλούν το θάνατο (death effector domains - DEDs). “DEDs” έχουν βρεθεί στην προκασπάση -8 και -10, ενώ “CARDS”

στις προκασπάσες -1,-2,-4,-5,-9,-11 και -12. Υδροφικές πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις επιτυγχάνονται κυρίως μέσω DED-DED επαφών, ενώ ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μέσω CARD-CARD επαφές. [140] [141] [142] [143] [144]



Εικόνα 3.1 : Δομή και ταξινόμηση των κασπασών. [145]

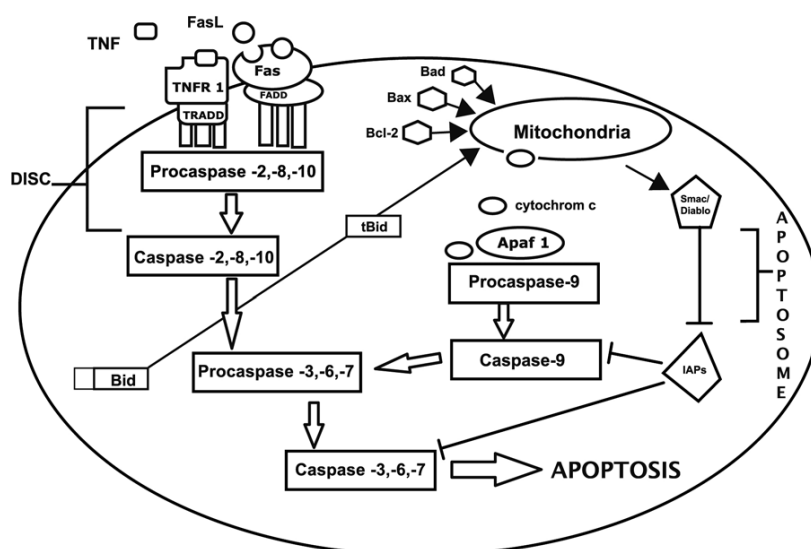
3.3 ΚΑΣΠΑΣΕΣ - ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Οι κασπάσες μπορούν να ταξινομηθούν με δύο διαφορετικές μεθόδους. (εικόνα 3.1) Με βάση τις κυριότερες λειτουργίες τους, μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο οικογένειες : στις κασπάσες που εμπλέκονται στη διαδικασία της απόπτωσης (κασπάση -2,-3,-6,-7,-8,-9,-10) και στις κασπάσες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην φλεγμονώδη αντίδραση (κασπάση -1,-4,-5,-11,-12). Αυτή η ταξινόμηση βέβαια ίσως είναι πολύ απλοποιημένη διότι οι κασπάσες έχουν και άλλες λειτουργίες εκτός της απόπτωσης και της φλεγμονής. Επίσης οι κασπάσες της φλεγμονής εμπλέκονται και στην απόπτωση. Μία εναλλακτική ταξινόμηση είναι σύμφωνα με το μήκος του αμινοτελικού τμήματος. Έτσι λοιπόν έχουμε τις εναρκτήριες κασπάσες (κασπάση -1,

-2,-4,-5,-8,-9,-10,-11,-12) και τις εκτελεστικές (κασπάση -3,-6,-7). Οι εναρκτήριες είναι αυτές που περιέχουν τις θέσεις CARD και DED και μεσολαβούν στην σύνδεση με πρωτεΐνες υποδοχείς ενώ οι εκτελεστικές ενεργοποιούνται μέσω πρωτεόλυσης από άλλες κασπάσες (εναρκτήριες) και ευθύνονται για την διάσπαση πλειάδας πρωτεϊνικών υποστρωμάτων που τελικά οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο. Κάποιες φορές οι εναρκτήριες κασπάσες μπορούν να λειτουργήσουν και ως εκτελεστικές, το οποίο βοηθά στην ενίσχυση σημάτων θανάτου σε κύτταρα στα οποία τα μονοπάτια θανάτου έχουν ξεκινήσει ασθενώς. Επίσης η ενεργοποίηση των εκτελεστικών κασπασών μπορεί να γίνει πέρα από τις εναρκτήριες κασπάσες και από άλλες πρωτεάσες, όπως οι καθεψίνες και οι καλπαΐνες [146]. Σε αντίθεση με τις άλλες κασπάσες η -14 εμπλέκεται στην διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων και εκφράζεται μόνο στα επιθηλιακά κύτταρα. [140] [147] [148]

3.4 ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Υπάρχουν δύο βασικά μονοπάτια που ενεργοποιούν την αποπτωτική διαδικασία ανάλογα με τα ερεθίσματα που δέχεται το κύτταρο. Οι δυο αυτές διεργασίες απαρτίζονται από έναν καταρράκτη αντιδράσεων και αλληλεπιδράσεων μορίων όπου βασικό ρόλο διαδραματίζουν οι κασπάσες. (εικόνα 3.2)



Εικόνα 3.2 : Τα μονοπάτια της απόπτωσης. [149]

3.4.1 Το εξωγενές μονοπάτι

Το μονοπάτι αυτό ξεκινάει με την πρόσδεση ενός εξωκυττάριου προσδέτη θανάτου (death ligand), που ανήκει στην υπεροικογένεια TNF (tumor necrosis factor)/NGF(nerve growth factor), στον αντίστοιχο υποδοχέα θανάτου (DR - Death receptor). Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 8 μέλη της οικογένειας των υποδοχέων θανάτου : TNF-R1, Fas (fibroblast associated antigen Apo-1, CD95), DR-3 (Apo-3, WSL-1, TRAMP), DR-4 (TRAIL-R1), DR-5 (TRAIL-R2), DR-6, EDA-R (ectodermal dysplasia receptor), and NGF-R. Χαρακτηριστικό τους είναι μία περιοχή 80 αμινοξέων στο κυτταροπλασματικό τμήμα τους που ονομάζεται “περιοχή θανάτου”(DD-Death domain). [150] Ένα από τα πιο μελετημένα μονοπάτια είναι αυτό που ξεκινάει με την πρόσδεση του εξωκυττάριου προσδέτη FasL (CD95L) στον υποδοχέα θανάτου Fas. [151] Αυτό οδηγεί στον συμπλησιασμό τριών ή περισσότερων μορίων Fas και την δημιουργία μιας θέσης δέσμησης για το προσαρμοστικό μόριο FADD (Fas-associated protein with death domain) και την κασπάση -8. Εν συνεχεία δημιουργείται ένα πρωτεϊνικό σύμπλοκο DISC (death-inducing signaling complex) το οποίο ενεργοποιεί την εναρκτήρια κασπάση -8, η οποία με τη σειρά της διασπά και ενεργοποιεί την εκτελεστική κασπάση -3. [152] Η λειτουργία του DISC στην ενεργοποίηση της κασπάσης -8 μοιάζει με αυτή του “αποπτωσώματος” στην ενεργοποίηση της κασπάσης -9. Το εξωγενές μονοπάτι μπορεί να διασταυρωθεί με το ενδογενές διαμέσου της διάσπασης της BID (BH3-Only μέλος της οικογένειας πρωτεϊνών BCL2) από την κασπάση -8. [153] [154] Τέλος το μονοπάτι αυτό μπορεί να ανασταλεί από την έκφρασή του c-FLIP, ενός φυσιολογικού αρνητικού ανάλογου της κασπάσης -8, που οδηγεί στον σχηματισμό ενός ανενεργού DISC. [148]

3.4.2 Το ενδογενές ή μιτοχονδριακό μονοπάτι

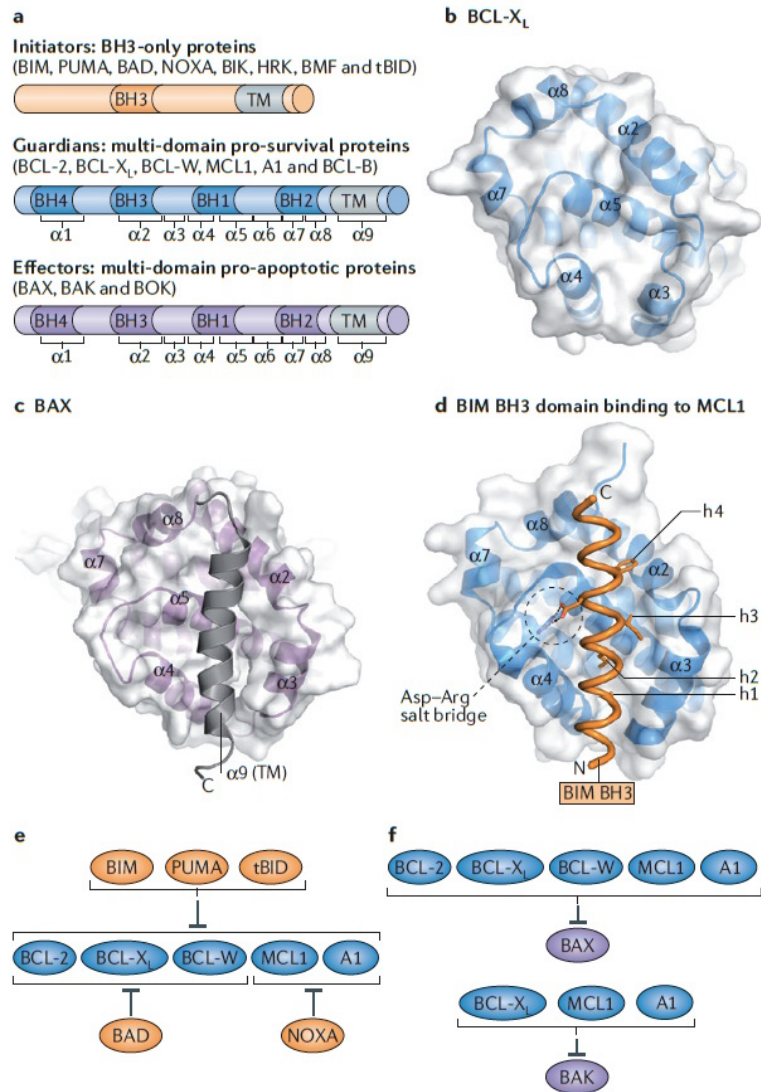
Ενεργοποιείται ως απάντηση σε ένα μεγάλο εύρος “ερεθισμάτων θανάτου” που προέρχονται μέσα από το κύτταρο, όπως η ενεργοποίηση ογκογονιδίων, βλάβες στο DNA, οξειδωτικό stress. Η απενεργοποίηση αυτής της οδού θεωρείται ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του καρκίνου. [155] [156] Το μονοπάτι αυτό εξαρτάται από την παρουσία των μιτοχονδρίων. Ως απάντηση στα αποπτωτικά ερεθίσματα, διάφορες πρωτεΐνες απελευθερώνονται από τον διαμεμβρανικό χώρο των μιτοχονδρίων στο κυτταρόπλασμα. [157] Μερικές από τις πιο καλά μελετημένες

πρωτεΐνες είναι το κυτόχρωμα c, ο SMAC (second mitochondria - derived activator of caspases)/DIABLO (direct inhibitor of apoptosis (IAP) - binding protein with low pI), ο AIF (apoptosis-inducing factor), ο EndoG (endonuclease G) και η OMI/HTRA2 (high-temperature-requirement protein A2). Ίσως η πιο σημαντική από αυτές τις προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες είναι το κυτόχρωμα c, το οποίο συνδέεται με τον παράγοντα APAF1 στο κυτταρόπλασμα και τον ενεργοποιεί. [158] Εν συνεχεία, παρουσία ATP/dATP δημιουργούν ένα σύμπλοκο με την προκασπάση -9 (αποπτώσωμα) που πυροδοτεί την αυτό-ενεργοποιητική της διάσπαση και την ενεργοποίηση της απόπτωσης. [159]

3.5 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΣΠΑΣΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Οι κύριες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση των προκασπασών είναι οι ενδοκυττάρια πρωτεΐνες της οικογένειας Bcl-2 (Bcl-2 family). (εικόνα 3.3) Ορισμένα μέλη της οικογένειας έχουν προαποπτωτική δράση, προάγουν δηλαδή την ενεργοποίηση των κασπασών και την διαδικασία της απόπτωσης, ενώ άλλα έχουν αντιαποπτωτική δράση, αναστέλλοντας δηλαδή τις προηγούμενες διαδικασίες. Τα μέλη της οικογένειας Bcl-2 παρουσιάζουν μία ομολογία στην αλληλουχία των αμινοξέων και έχουν τέσσερις σταθερές περιοχές, BH1-BH4. Τα κυριότερα προαποπτωτικά μέλη είναι οι πρωτεΐνες Bad, Bak, Bax, Bcl-xs, Bid, Bik, Bim/Bod, Blk, Bok, and Harakiri/DP5 ενώ στις αντιαποπτωτικές ανήκουν οι A1/Blf-1, Bcl-2, Bcl-w, Bcl-xL, Boo/Diva, and Mcl-1. [160] Γενετικές αναλύσεις και μελέτες στον νηματώδη σκώληκα *C. elegans* έδωσαν πολλές πληροφορίες για το πώς αυτές οι πρωτεΐνες επηρεάζουν την επιβίωση των κυττάρων. [161] Το επίπεδο έκφρασης και το στάδιο ενεργοποίησης τους μπορεί να επηρεάσει ένα σημαντικό αριθμό αποπτωτικών μορίων όπως το κυτόχρωμα c, την προκασπάση -2, -3, -9, τον AIF (apoptosis inducing factor), την ενδονουκλεάση G, τον Smac (second mitochondria derived activator of caspase)/DIABLO (direct IAP binding protein with low pI), τον Omi/HtrA2 (high temperature requirement A2) και πολλούς άλλους από τον μιτοχονδριακό διαμεμβρανικό χώρο. Μεταξύ αυτών των γεγονότων, η ενεργοποίηση της προκασπάσης -9 (εκκινήτης του ενδογενούς μονοπατιού) είναι ίσως η σημαντικότερη ενέργεια. [140] Οι προαποπτωτικές πρωτεΐνες Bax και Bak, που

εντοπίζονται φυσιολογικά στο κυτταρόπλασμα, ενεργοποιούνται από πρωτεΐνες επαγωγής θανάτου της ίδιας οικογένειας οι οποίες παράγονται μετά από κυτταρική βλάβη ή stress. [162]



Εικόνα 3.3 : Δομή των πρωτεϊνών της οικογένειας BCL-2 και οι αλληλεπιδράσεις τους. [163]

Μετατοπίζονται στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, υπόκεινται ολιγομερισμό, εισέρχονται στην μεμβράνη και επάγουν την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα [164]. Από τα αντιαποπρωτικά μέλη, πιο καλά έχουν μελετηθεί οι πρωτεΐνες Bcl-2 και Bcl-xL. Ανευρίσκονται κυρίως στην εξωτερική μιτοχονδριακή

μεμβράνη και αποτρέπουν την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c, πιθανώς δεσμεύοντας και εμποδίζοντας τις πρωτεΐνες Bax και Bak. Κάποιες BH3-Only πρωτεΐνες, όπως οι Bid και Bim, συμβάλλουν στην προαποπτωτική δράση της Bax και Bak προάγοντας τον ομοολιγομερισμό αυτών των πρωτεϊνών. [165] Τέλος σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της απόπτωσης διαδραματίζει το γονίδιο p53, ο παράγοντας NFκB, η κινάση PI3K και οι πρωτεΐνες IAP (Inhibitors of apoptosis). [155] [166] [167]

3.6 ΚΑΣΠΑΣΗ -8 ΚΑΙ ΚΑΣΠΑΣΗ -9

Η κασπάση 8(CASP8) κατέχει ρόλο κλειδί στη διαδικασία της απόπτωσης (κυρίως στο εξωγενές μονοπάτι), σε αυτή τη σημαντική διαδικασία που αποτελεί αμυντικό μηχανισμό ενάντια στον υπερπολλαπλασιασμό των κυττάρων και στην καρκινογένεση. Από την στιγμή που θα ενεργοποιηθεί, θα ξεκινήσει τον καταρράκτη της απόπτωσης ενεργοποιώντας πρωτεολυτικά την κασπάση -3, την -7 και την πρωτεΐνη Bid. Η ενεργοποιημένη κασπάση -8 μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει τον παράγοντα NFκB και να έχει ρυθμιστικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων. Η πρωτεΐνη κλειδί στην ρύθμιση του μηχανισμού ενεργοποίησης την κασπάσης -8 είναι η c-FLIP_L. [168] Η κασπάση -8, λοιπόν, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και σε μη αποπτωτικές διαδικασίες, όπως στην διαφοροποίηση των μακροφάγων, στον πολλαπλασιασμό των T, των B και των NK κυττάρων αλλά και στην ανάπτυξη του καρδιακού μυ. [169] [170] [171]

Οι γενετικοί πολυμορφισμοί του γονιδίου της κασπάσης 8 φαίνεται πως παίζουν σημαντικό ρόλο στην προδιάθεση για καρκίνο. Ο τύπος D302H(rs1045485) συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού στον πληθυσμό της Ευρώπης ενώ ο πολυμορφισμός -652 6N in/del (rs3834129) του εκκινήτη του γονιδίου της κασπάσης 8 συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης διάφορων τύπων καρκίνου. [172] [173] Πιθανολογείται πως το αποτέλεσμα του τελευταίου πολυμορφισμού οφείλεται στο ότι η έλλειψη καταστρέφει τη θέση σύνδεσης της stimulatory protein 1 μειώνοντας την μεταγραφή της CASP8. Αντίθετα ο Haiman et al αναφέρει πως ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός δεν διαδραματίζει κάποιο ρόλο στον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου, γεγονός που το επιβεβαιώνει και ο Gangwar et al όσον αφορά τον καρκίνο της

ουροδόχου κύστεως [174] [175] Όσον αφορά τη σχέση των πολυμορφισμών του γονιδίου της CASP8 και το γαστρικό καρκίνο, στην βιβλιογραφία υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα. Ο Soung et al περιγράφει την ύπαρξη μεταλλάξεων της CASP8 στον προχωρημένο γαστρικό καρκίνο ενώ άλλοι ερευνητές αναφέρουν μειωμένη δράση της μεταλλαγμένης CASP8. [176]

Καθοριστικό ρόλο στο ενδογενές μονοπάτι παίζει η κασπάση 9 (CASP9), η οποία ενεργοποιείται μετά από ζημιά στα μιτοχόνδρια και την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c. Κατά την απόπτωση, το κυτόχρωμα c απελευθερώνεται από τα μιτοχόνδρια και συνδέεται με το μόριο Araf-1 και την προκασπάση-9, σχηματίζοντας έτσι το «αποπτώσωμα». Το τελικό αποτέλεσμα είναι η ενεργοποίηση της κασπάσης 9 (CASP9), που μέσω μίας σειράς αλυσιδωτών αντιδράσεων οδηγεί στην καταστροφή των κυτταρικών συστατικών. Οι σημειακοί γενετικοί πολυμορφισμοί (SNPs - Single Nucleotide Polymorphisms) αποτελούν τις πιο συχνές γενετικές παραλλαγές στον άνθρωπο και επηρεάζοντας την έκφραση ή την λειτουργία διάφορων ενζύμων φαίνεται πως παίζουν ρόλο στην προδιάθεση για καρκίνο. Στην πρόσφατη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφοροι πολυμορφισμοί του γονιδίου της CASP9 και παρόλο που η σημασία του δεν έχει διευκρινιστεί, έχει υποτεθεί ότι κυρίως οι απλότυποι τους, επηρεάζοντας την έκφραση και τη λειτουργία της CASP9, ίσως να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην προδιάθεση για καρκίνο. Περιορισμένα δεδομένα υπάρχουν όσον αφορά τη σχέση των πολυμορφισμών του γονιδίου της CASP9 και του γαστρικού καρκίνου. [177] [178]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΟΥΡΒΙΒΙΝΗ

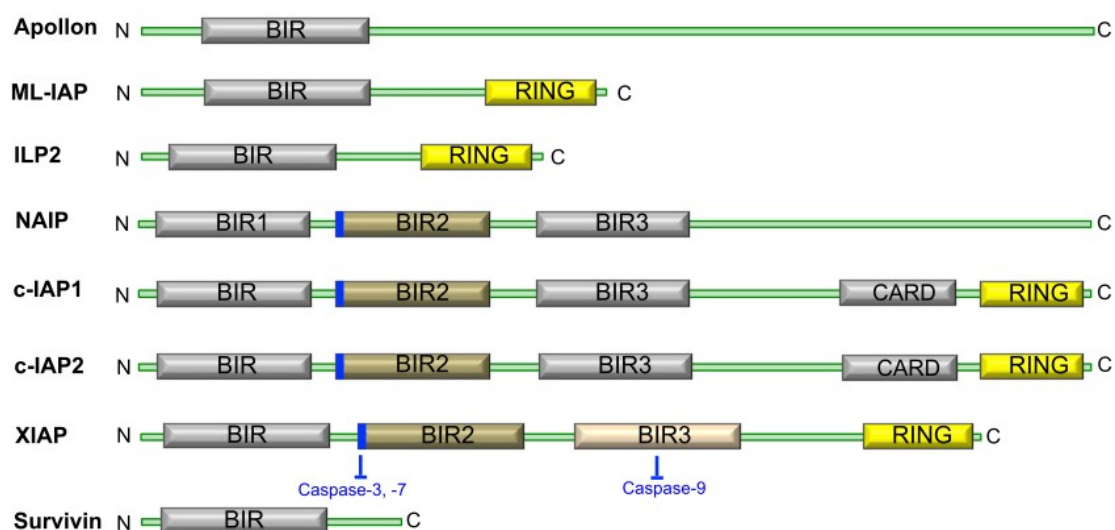
4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι αναστολείς της απόπτωσης (IAPs) είναι μία οικογένεια πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη ρύθμιση της απόπτωσης και στην απάντηση του ανοσοποιητικού συστήματος με τα T κύτταρα στον καρκίνο. Η σουρβιβίνη είναι μέλος αυτής της οικογένειας και καταλαμβάνει θέση κλειδί λόγω της υπερέκφρασης της στα καρκινικά κύτταρα. Η σουρβιβίνη προάγει την εξέλιξη των όγκων με διάφορους τρόπους όπως : επεμβαίνοντας στην διαδικασία της απόπτωσης και της κυτταρικής διαίρεσης, μεταβάλλοντας την ευαισθησία των κυττάρων στα αντικαρκινικά φάρμακα και αυξάνοντας την επιβίωση των καρκινικών βλαστοκυττάρων. Η σουρβιβίνη μπορεί να χρησιμεύσει ως γενικό καρκινικό αντιγόνο επειδή εκφράζεται στις περισσότερες κακοήθειες και έχει τη δυνατότητα να ενεργοποιεί ανοσοαπαντήσεις. Συνεπώς, η παρεμπόδιση των λειτουργιών της σουρβιβίνης με ανοσοθεραπευτικές ουσίες αναδύεται ως μία πολλά υποσχόμενη θεραπευτική στρατηγική στον καρκίνο. [179]

4.2 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ IAP ΚΑΙ ΣΟΥΡΒΙΒΙΝΗ

Η οικογένεια πρωτεϊνών (IAPs) ανευρίσκεται σχεδόν σε όλα τα είδη οργανισμών και στον άνθρωπο αποτελείται από οκτώ μέλη (εικόνα 4.1) : NAIP (neuronal apoptosis inhibitory protein), c-IAP1/HIAP-2 (baculoviral IAP repeat-containing protein 2/human inhibitor of apoptosis protein-2), c-IAP2/HIAP-1 (baculoviral IAP repeat-containing protein3/ human inhibitor of apoptosis protein-1), XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis), ILP2 (IAP-like protein 2), MLIAP (melanoma inhibitor of apoptosis protein), Σουρβιβίνη, και BRUCE (BIR repeat-containing ubiquitin enzyme system). Οι (IAPs) είναι λειτουργικά και δομικά παρόμοιες, και κατέχουν ρυθμιστικό ρόλο στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, οποιαδήποτε δυσλειτουργία τους, να συνδέεται με ανάπτυξη καρκίνου, επαγωγή της ογκογένεσης και φαρμακευτική ανθεκτικότητα. [179] [180] [181] [182] Όλα τα μέλη των (IAPs)

έχουν ένα κοινό δομικό χαρακτηριστικό: περιοχές περίπου 70 αμινοξέων BIR (Baculovirus IAP Repeats) στο N-τελικό άκρο, οι οποίες είναι απαραίτητες αλλά όχι επαρκείς για τη αντιαποπτωτική τους δράση. Αν και ο αριθμός των ακολουθιών BIR διαφέρει μεταξύ των IAP μελών, κάθε περιοχή BIR αποτελείται από ένα διατηρούμενο συντονιστικό μοτίβο ψευδαργύρου, κυστεϊνών, ιστιδινών. Κάποιες IAPs απαιτούν και μια περιοχή (RING) δίπλα στο C-τελικό τους άκρο για την καταστολή της απόπτωσης. Οι c-IAP1 και c-IAP2 περιέχουν μια περιοχή δέσμωσης της κασπάσης (CARD). Κάποιες άλλες IAPs διαθέτουν επίσης πρόσθετες περιοχές όπως οι UBA και UBC. [183] [184] [185]

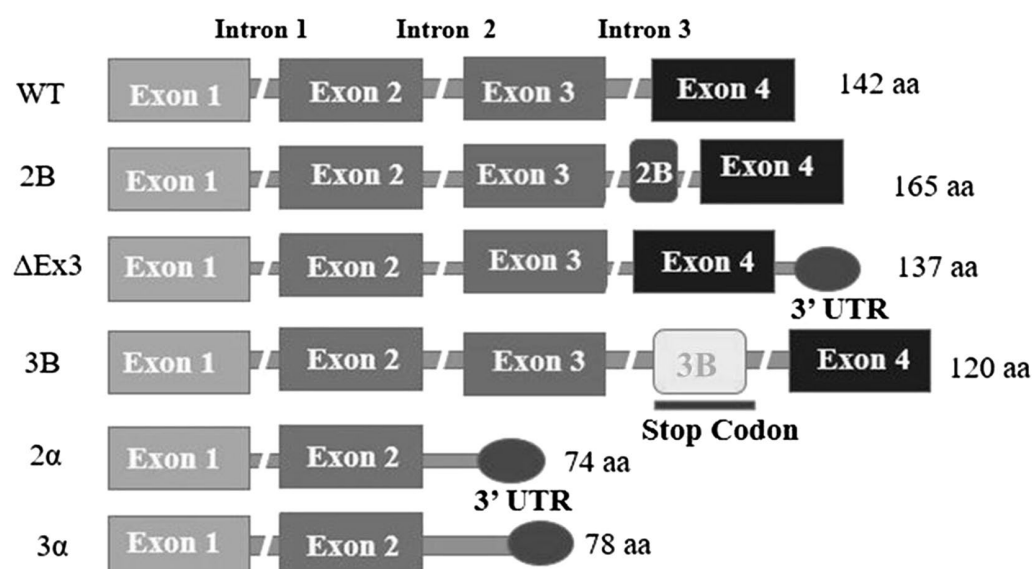


Εικόνα 4.1 : Δομή των πρωτεϊνών IAPs στα θηλαστικά. [186]

Η σουρβιβίνη είναι η μικρότερη πρωτεΐνη απ' όλες τις IAPs και έχει μια μόνο περιοχή BIR στο N-τελικό της άκρο [187] και μια μακριά C-τελική α-έλικα. Συγκριτικά με τις υπόλοιπες IAPs, η σουρβιβίνη έχει πιο περιορισμένη έκφραση στους ιστούς και διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης, της απόπτωσης και στη σταθερότητα των μικροσωληνίσκων. [181] [188] [189] [190] [191] Εκφράζεται σε σημαντικό βαθμό στους περισσότερους καρκίνους αλλά όχι στους φυσιολογικούς διαφοροποιημένους ιστούς, κάνοντας την έναν πολύ σημαντικό καρκινικό δείκτη. [189] Η σουρβιβίνη κωδικοποιείται από το γονίδιο BIRC5, στο χρωμόσωμα 17q25, που αποτελείται από 4 εξόνια και 3 ιντρόνια. Το γονίδιο αυτό, εκτός από την σουρβιβίνη

Wild Type" (4 εξόνια, 142 αμινοξέα) κωδικοποιεί άλλες 5 ισομορφές (εικόνα 4.2): τη -ΔEx3 (σουρβιβίνη με απομάκρυνση του εξονίου 3, 137 αμινοξέα), -2B (σουρβιβίνη με ένα πρόσθετο εξόνιο, 165 αμινοξέα), -3B (5 εξόνια, 120 αμινοξέα), -2α (2 εξόνια, 74 αμινοξέα), -3α (2 εξόνια, 78 αμινοξέα). [192] [193] [194] Όλες οι ισομορφές έχουν ταυτόσημες αλληλουχίες στο N-τελικό άκρο τους αλλά διαφέρουν στο C-τελικό. Επίσης έχουν διαφορετική κυτταρική εντόπιση και συνδέονται με διαφορετική πρόγνωση σε κάθε νόσο. Η -ΔEx3 ανευρίσκεται κυρίως στον πυρήνα και σχετίζεται με δυσμενή κλινική έκβαση και πρόγνωση. [195] Η -2B ανευρίσκεται στο κυτταρόπλασμα αλλά όσον αφορά την πρόγνωση τα αποτελέσματα των μελετών είναι αντικρουόμενα. [196]

Γενικά η -ΔEx3 θεωρείται ότι έχει αντιαποπτωτική δράση ενώ η -2B προαποπτωτική. Τέλος οι διάφορες ισομορφές επηρεάζουν διαφορετικά την αγγειογένεση και την πρόοδο της νόσου. [197] [198]



Εικόνα 4.2 : Ισομορφές της σουρβιβίνης. [179]

Η σουρβιβίνη ανευρίσκεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα, και λειτουργεί ως καταστολέας της απόπτωσης, ενώ σε μικρότερη συγκέντρωση ανευρίσκεται στον πυρήνα ρυθμίζοντας την κυτταρική διαίρεση. Εκτός από το κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα, η σουρβιβίνη έχει ανιχνευτεί και στα μιτοχόνδρια. Από αυτά

απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα μετά από ερεθίσματα κυτταρικού στρες και καταστέλλει την ενεργοποίηση των κασπασών. [199] Τέλος η σουρβιβίνη υπάρχει και έξω από τα κύτταρα, σε εξωσώματα 40-100 nm τα οποία εκκρίνονται από τα καρκινικά κύτταρα και προσλαμβάνονται από τα γειτονικά κύτταρα. Η σουρβιβίνη που ανευρίσκεται στα εξωσώματα έχει αποδειχτεί ότι έχει την ικανότητα να αυξάνει την ανθεκτικότητα των καρκίνων στις θεραπείες, να αυξάνει την διηθητικότητα τους αλλά και τον ρυθμό πολλαπλασιασμού. Αυξημένα επίπεδα εξωκυττάριας σουρβιβίνης σε καρκίνο προστάτη συσχετίζονται με τη σοβαρότητα της νόσου. [200] [201]

4.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΣΟΥΡΒΙΒΙΝΗΣ

4.3.1 Κυτταρικός πολλαπλασιασμός

Μία από τις σημαντικότερες λειτουργίες της σουρβιβίνης είναι η ρύθμιση της μίτωσης και της κυτταρικής διαίρεσης. Η σύνθεση, η έκφραση και η αποδόμηση της στα φυσιολογικά κύτταρα, είναι εξαρτώμενη από τον κυτταρικό κύκλο. [179]

Η μέγιστη έκφραση της παρατηρείται κατά την φάση G2/M, όταν αλληλοεπιδρά με τους μικροσωληνίσκους της μιτωτικής ατράκτου, ενώ σημαντική μείωση παρατηρείται κατά την φάση G1. [190]

Οι μεταλλάξεις του γονιδίου της σουρβιβίνης έχουν ως αποτέλεσμα να χαθεί η αντιαποπτωτική της δράση, να αυξηθεί η δραστηριότητα της κασπάσης -3 και η προαγωγή του κυτταρικού θανάτου. Δεν εκτελείται η κυτταροκίνηση και δεν σχηματίζονται οι μικροσωληνίσκοι. [202]

Επίσης η σουρβιβίνη συμμετέχει στην μετάβαση από την φάση G1 στην φάση S. Η αυξημένη έκφραση της, επιταχύνει τη φάση S και χάνεται η ακινητοποίηση στη φάση G1. [203] [204]

Η σουρβιβίνη αποτελεί μέρος του χρωμοσωμικού συμπλέγματος CPC (chromosomal passenger complex), που περιέχει επίσης τις πρωτεΐνες INCENP (inner centromere protein), Borealin (ή Dasra) και την μιτωτική κινάση Aurora B. Το σύμπλεγμα αυτό

έχει ρυθμιστικό ρόλο στην διαδικασία διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων και στην κυτταροκίνηση. [205] (εικόνα 4.3)

Το σύμπλοκο CPC προάγει την μιτωτική διαίρεση και ανευρίσκεται στα κεντρομερή των χρωμοσωμάτων, στην μιτωτική άτρακτο και στους κινητοχώρους. [206]

4.3.2 Αναστολή της απόπτωσης

Η υπερέκφραση της σουρβιβίνης αναστέλλει τόσο την ενδογενή όσο και την εξωγενή οδό της απόπτωσης [189] [191], ενώ η μείωση της προκαλεί ανωμαλίες στην απόπτωση και την κυτταρική διαίρεση. [205] Μπλοκάρει τους υποδοχείς θανάτου (“death receptors”) και το μιτοχονδριακό μονοπάτι της απόπτωσης, αναστέλλοντας άμεσα την κασπάση -3 και την -7, αλλά και παρεμβαίνοντας στην δραστηριότητα/επεξεργασία της κασπάσης -9. [207] [208] Επιπροσθέτως, η σουρβιβίνη εξουδετερώνει τα αποπτωτικά ερεθίσματα που προέρχονται από την ιντερλευκίνη 3, Bax, Fas, TNF- α , κασπάσες, αντικαρκινικά φάρμακα και ακτινοβολία X. [209] [210]

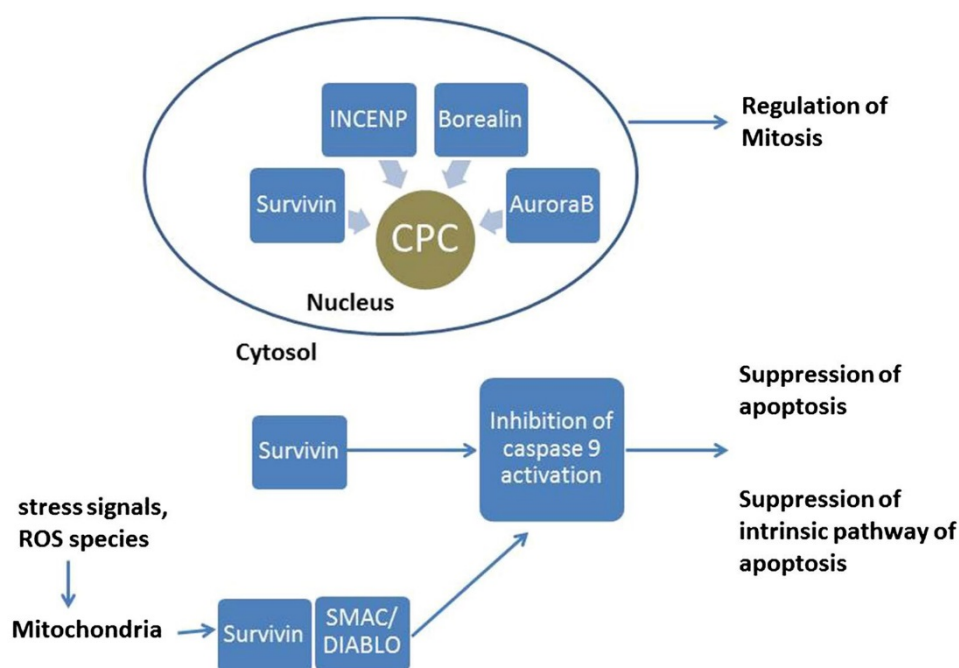
Αν και ο μηχανισμός δράσης της στην αναστολή της απόπτωσης δεν είναι πλήρως κατανοητός υπάρχουν αναφορές ότι γίνεται μέσω της άμεσης ή έμμεσης σύνδεσης της με τις κασπάσες (εναρκτήριες και εκτελεστικές) [211]. Υπάρχουν αναφορές για άμεση σύνδεση της σουρβιβίνης με την κασπάση -3 αν και απουσιάζουν από το μόριο της τα δομικά στοιχεία που υπάρχουν στις άλλες IAPs και ευθύνονται για τις αλληλεπιδράσεις με την συγκεκριμένη κασπάση. [212] [213] [214] [215]

Κάποιες μελέτες δείχνουν ότι η σουρβιβίνη συνδέεται είτε απευθείας στην κασπάση -9, αναστέλλοντας την δράση της [216] ή έμμεσα μέσω του παράγοντα HBXIP (hepatitis B X-interaction protein) στην προκασπάση -9. Έχει προταθεί ακόμα ότι η XIAP (X-linked IAP), που περιέχει περιοχές BIR, οδηγεί σε αναστολή της κασπάσης -9 μαζί με την σουρβιβίνη. [215] [217] [218]

Σύμφωνα με έναν άλλο μηχανισμό, η σουρβιβίνη αναστέλλει την μιτοχονδριακή οδό της απόπτωσης δημιουργώντας σύμπλοκο και μπλοκάροντας τις προαποπτωτικές πρωτεΐνες SMAC/DIABLO, οι οποίες είναι πρωτεΐνες που απελευθερώνονται από τα μιτοχόνδρια και ενεργοποιούν την κασπάση -9. Μία σημειακή μετάλλαξη στο Asp71

της σουρβιβίνης, προκαλεί αδυναμία σύνδεσης με την SMAC/DIABLO. [216]
[219](εικόνα 4.3)

Συμπερασματικά, υπάρχουν σημαντικά στοιχεία που υποστηρίζουν τη διπλή λειτουργία της σουρβιβίνης, δηλαδή ως αναστολέας της απόπτωσης για την οποία είναι απαραίτητο το N- τελικό άκρο της, και ως ρυθμιστικός παράγοντας της κυτταρικής διαίρεσης (όπου απαιτείται το C- τελικό άκρο).



Εικόνα 4.3 : Οι ρόλοι της σουρβιβίνης στην απόπτωση και την κυτταρική διαίρεση.
[179]

4.3.3 Αγγειογένεση, Μετάσταση, Χημειοανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων

Ένα από τα υπεύθυνα μονοπάτια για την ανάπτυξη των όγκων, στα οποία μεσολαβεί η σουρβιβίνη, είναι η προώθηση της αγγειογένεσης στα καρκινικά κύτταρα. [220] Η σουρβιβίνη αυξορρυθμίζει (up-regulates) την έκφραση του VEGF και προάγει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων. [221]

Η επαγόμενη από την σουρβιβίνη έκφραση του VEGF, συμβάλλει στην χημειοανθεκτικότητα προκαλώντας την οργάνωση των μικροσωληνίσκων σε ξεχωριστές ίνες. Η σουρβιβίνη είναι αυξημένη στο αγγειακό ενδοθήλιο των όγκων σε σχέση με τους φυσιολογικούς ιστούς, προσδίδοντας ανθεκτικότητα αυτών των κυττάρων στα φάρμακα. Επομένως η στόχευση της σουρβιβίνης στους διάφορους όγκους μπορεί να προκαλέσει όχι μόνο νέκρωση των κυττάρων των όγκων αλλά και ευαισθητοποίηση αυτών στα χημειοθεραπευτικά. [222] [223]

Η σουρβιβίνη ίσως συνεργάζεται και με τις υπόλοιπες IAP στην προώθηση των μεταστάσεων. Η σουρβιβίνη έχει αποδειχτεί ότι έχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της φυσιολογίας των βλαστοκυττάρων του αιμοποιητικού, νευρικού και εντερικού συστήματος. Επίσης είναι σημαντική για την λειτουργία των εμβρυϊκών και των παντοδύναμων βλαστοκυττάρων. Δεδομένου ότι τα φυσιολογικά βλαστοκύτταρα έχουν κοινά χαρακτηριστικά με τα καρκινικά βλαστοκύτταρα, είναι εύλογο να υποθέσουμε ότι η έκφραση της σουρβιβίνης στα καρκινικά βλαστοκύτταρα επηρεάζει τη συμπεριφορά τους. [224]

Αυτό ελέγχεται σε μεταγραφικό επίπεδο και ρυθμίζεται από τρία στοιχεία CDEs (Cell cycle-Dependent Elements) και μία περιοχή CHR (Cell cycle Homology Region) που βρίσκονται στην εγγύτερη περιοχή του υποκινητή της σουρβιβίνης. [225]

Σε διάφορες ανθρώπινες νεοπλασίες όπως στον καρκίνο του παχέος εντέρου, στον καρκίνο του πνεύμονα, στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, στον καρκίνο παγκρέατος και στο οστεοσάρκωμα, έχει παρατηρηθεί υπερέκφραση της σουρβιβίνης, η οποία σχετίζεται και με δυσμενή πρόγνωση. [226] [227] [228] [229] [230] [231]

Έχουν ταυτοποιηθεί αρκετοί σημειακοί πολυμορφισμοί του υποκινητή του γονιδίου της σουρβιβίνης, ένας από τους οποίους βρίσκεται στη θέση σύνδεσης του καταστολέα CDE/CHR (-31 G/C). Αυτός ο πολυμορφισμός σχετίζεται με υπερέκφραση της σουρβιβίνης και ανώμαλη κυτταρική μεταγραφή εξαρτώμενη από τον κυτταρικό κύκλο λόγω του ότι η μετάλλαξη τροποποιεί τη θέση σύνδεσης του καταστολέα CDE/CHR σε μια σειρά καρκινικών κυττάρων. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι τα στοιχεία CDE/CHR είναι απαραίτητα για την καταστολή της μεταγραφής του γονιδίου της σουρβιβίνης κατά τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, υποδηλώνοντας ότι η μεταγραφική καταστολή από το CDE/CHR μπορεί να είναι σημαντικό σημείο στον

έλεγχο των γονιδίων που εκφράζονται κατά τη φάση G2/M του κυτταρικού κύκλου.
[232]

Ωστόσο, ο πολυμορφισμός -31 G/C του υποκινητή της σουρβιβίνης στο σημείο σύνδεσης του CDE/CHR δεν έχει μελετηθεί εκτεταμένα στις ανθρώπινες νεοπλασίες.
[177] [233] [234]

Επί του παρόντος, ο ρόλος αυτού του πολυμορφισμού στον καρκίνο του στομάχου δεν είναι πλήρως κατανοητός. Βάσει αυτών των δεδομένων, ένας από τους σκοπούς της εργασίας ήταν να διερευνηθεί κατά πόσον ο γενετικός πολυμορφισμός -31 G/C του υποκινητή της σουρβιβίνης αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τον γαστρικό καρκίνο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

SDF-1

5.1 ΧΗΜΕΙΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥΣ

Οι χημειοκίνες είναι μία οικογένεια μικρών φλεγμονωδών ή ομοιοστατικών κυτταροκινών (8-10 KDa) που έχουν μία κοινή βιολογική δραστηριότητα : τον έλεγχο της μετανάστευσης διαφόρων τύπων κυττάρων όπως είναι τα λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα και τα κακοήθη επιθηλιακά κύτταρα. [235] [236]

Έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 50 μέλη χημειοκινών τα οποία ταξινομούνται σε τέσσερις ομάδες ανάλογα με τον αριθμό και την θέση των N-τελικών καταλοίπων κυστεΐνης (εικόνα 5.1). Οι ομάδες αυτές είναι οι ακόλουθες : a) CXC b) CC c) C d) CX3C. [237] Συντίθενται ως προπεπτίδια, και ένα σηματοδοτικό πεπτίδιο περίπου 20 αμινοξέων που έχουν στην αρχή του μορίου τους αποκόπτεται όταν εκκρίνονται από το κύτταρο. Όλα τα μέλη φέρουν συντηρημένα κατάλοιπα αμινοξέων που στις περισσότερες περιπτώσεις είναι τέσσερις κυστεΐνες που σχηματίζουν ζεύγη. Η πρώτη κυστεΐνη με την τρίτη και η δεύτερη με την τέταρτη. Οι δύο πρώτες βρίσκονται στο N-τελικό άκρο, η τρίτη κεντρικά και η τέταρτη στο C-τελικό άκρο της πρωτεΐνης. [238]

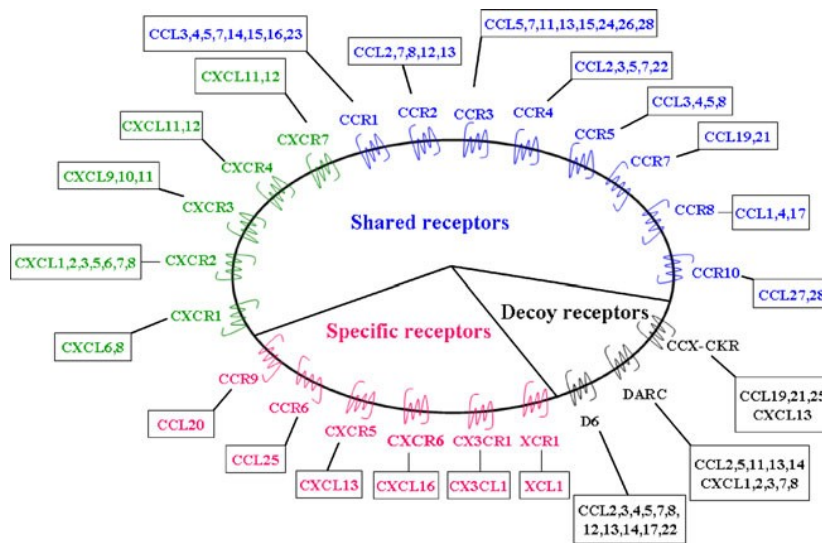
- a) οι CXC χημειοκίνες έχουν ένα μόνο τυχαίο αμινοξύ “X” ανάμεσα από τα δύο N-τελικά κατάλοιπα κυστεΐνης
- b) οι CC χημειοκίνες έχουν τα δύο κατάλοιπα κυστεΐνης του N-τελικού άκρου γειτονικά
- c) οι C χημειοκίνες έχουν μόνο μία κυστεΐνη στο N-τελικό άκρο
- d) οι CX3C χημειοκίνες έχουν 3 τυχαία αμινοξέα “XXX” ανάμεσα στις δύο κυστεΐνες του N-τελικού τμήματος

Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί περισσότεροι από 20 υποδοχείς χημειοκινών. (CCR1-11, CXCR1-7, XCR1 και CX3CR1). Οι χημειοκίνες με τους υποδοχείς τους

παίζουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή, στις λοιμώξεις, στην ιστική βλάβη, στις αλλεργίες, στις καρδιαγγειακές παθήσεις και στους κακοήθεις όγκους. [239]

Οι υποδοχείς αυτοί (G-protein-coupled receptors - GPCRs), ανήκουν σε μία οικογένεια υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνες. Έχουν 7 διαμεμβρανικές α-έλικες, οι οποίες καθώς αναδιπλώνονται σχηματίζουν 3 ενδοκυττάρια και 3 εξωκυττάρια θηλίες. Επίσης έχουν ένα εξωκυττάρια N-τελικό άκρο και ένα ενδοκυττάρια καρβοξυτελικό. Το N-τελικό άκρο αναγνωρίζει και συνδέεται με τη χημειοκίνη ενώ το C-τελικό μαζί με τις ενδοκυττάρια ουρές μεταφέρουν το σήμα στην G πρωτεΐνη ενεργοποιώντας τα ενδοκυττάρια μονοπάτια σηματοδότησης. [240] [241] [242]

Οι περισσότερες χημειοκίνες συνδέονται σε πολλούς υποδοχείς, όπως επίσης ορισμένοι υποδοχείς συνδέονται με περισσότερες από μία χημειοκίνες. Οι CXC υποδοχείς είναι πιο ειδικοί από τους CC. [243] [244]



Εικόνα 5.1 : Η οικογένεια των χημειοκινών και οι υποδοχείς τους. [245]

Ένας από τους πιο σημαντικούς ρόλους των χημειοκινών και των υποδοχέων τους είναι στην διαδικασία της μετάστασης. Οι υποδοχείς των χημειοκινών μπορούν να διευκολύνουν την διασπορά του όγκου σχεδόν σε όλα τα βήματα της μεταστατικής διαδικασίας, όπως στην προσκόλληση των καρκινικών κυττάρων στο ενδοθήλιο, την εξαγγείωση τους από τα αιμοφόρα αγγεία, τον αποικισμό τους, την αγγειογένεση, τον

πολλαπλασιασμό και την προστασία τους από τον ξενιστή μέσω ενεργοποίησης διαφόρων μονοπατιών επιβίωσης όπως το ERK/MAPK, PI-3K/Akt/mTOR, Jak/STAT κτλ. Επιπλέον οι χημειοκίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην επικοινωνία μεταξύ καρκινικών κυττάρων και μη νεοπλασματικών στο μικροπεριβάλλον του όγκου (TME), συμπεριλαμβανομένων των ενδοθηλιακών κυττάρων και των ινοβλαστών, προωθώντας την διήθηση, την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων που σχετίζονται με τον όγκο στο TME. [246]

5.2 SDF-1

Ο SDF-1 (Stromal-derived factor-1) ή CXCL12 (C-X-C Motif Chemokine Ligand 12) ή αλλιώς PBSF (Pre-B-cell growth-stimulating factor) είναι μία μικρή ομοιοστατική χημειοκίνη (8 KDa) που ανήκει στην οικογένεια των CXC χημειοκινών. Εκφράζεται ευρέως σε διάφορα όργανα όπως ο εγκέφαλος, ο πνεύμονας, το παχύ έντερο, η καρδιά, ο νεφρός και το ήπαρ. [238]

Έχουν ταυτοποιηθεί 6 ισομορφές του SDF-1 (-α, -β, -γ, -δ, -ε, -φ) οι οποίες κωδικοποιούνται από ένα και μόνο γονίδιο. Αυτές οι ισομορφές μοιράζονται τα ίδια πρώτα τρία εξόνια αλλά περιέχουν διαφορετικά τέταρτα. Χαρακτηρίζονται επίσης από διαφορετικές ιδιότητες όπως η σταθερότητα και ο ιστός προέλευσης. Ο SDF-1α παράγεται συνεχώς σε πολλά όργανα αλλά αποδομείται γρήγορα στο αίμα, ο SDF-1β παρουσιάζει υψηλή πρωτεολυτική σταθερότητα και εκφράζεται σε αγγειοβριθή όργανα όπως το ήπαρ, ο σπλήνας και ο νεφρός. Ο SDF-1γ υπάρχει σε όργανα με μικρότερη αγγείωση όπως η καρδιά και ο εγκέφαλος. Ο ρόλος των υπολοίπων ισομορφών δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. [247] [248]

Ο SDF-1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε πολλές διεργασίες κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης, συμπεριλαμβανομένης της αιματοποίησης, της καρδιογένεσης, της νευρογένεσης και τον σχηματισμό των αγγείων. Στους ενήλικες ο παράγοντας SDF-1 είναι υπεύθυνος για την κατακράτηση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων στον μυελό των οστών και για την μετακίνηση των λεμφοκυττάρων. Εμπλέκεται στην διαδικασία της αγγειογένεσης και της μετάστασης σε μία σειρά από συμπαγείς όγκους αλλά και σε αιματολογικές κακοήθειες όπως η λευχαιμία, το λέμφωμα και το πολλαπλό μυέλωμα. [249]

Επίσης η έκκριση του SDF-1 συσχετίζεται με ιστική βλάβη, όπως το καρδιακό έμφρακτο, η ισχαιμία των άκρων, η τοξική ηπατική βλάβη, η μαζική αιμορραγία, η ακτινοβόληση ολόκληρου του σώματος και η ιστική ζημιά από χημειοθεραπεία. [250]

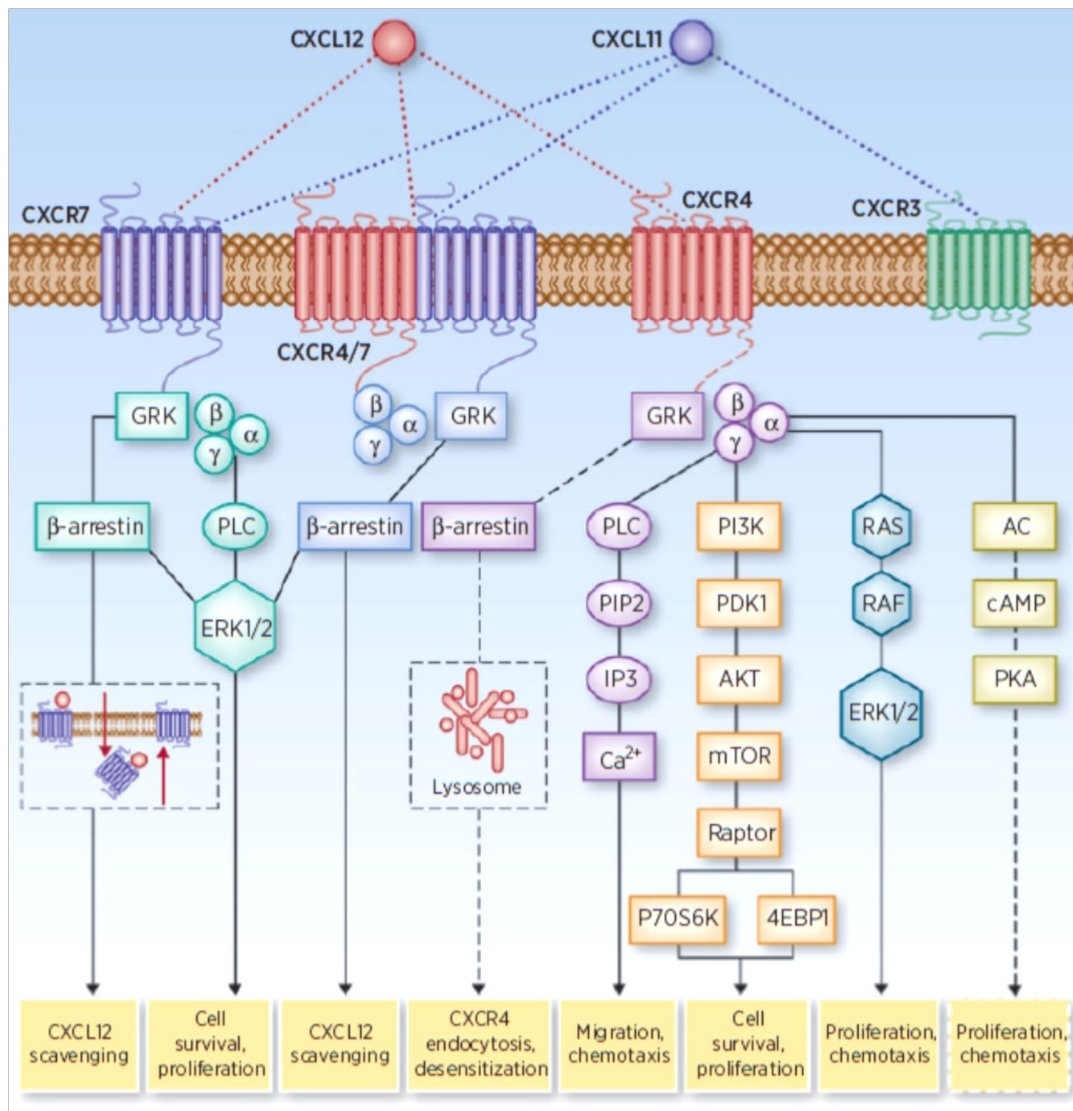
5.3 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥ SDF-1

Ο SDF-1 συνδέεται κυρίως με τον υποδοχέα CXCR4 ο οποίος χρησιμεύει και στην είσοδο του ανθρώπινου ιού ανοσοανεπάρκειας (HIV) στα T Helper κύτταρα, εκτός από τον υποδοχέα CD4.

Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης ο CXCR4 εκφράζεται σε ένα ευρύ φάσμα ιστών, συμπεριλαμβανομένου του ανοσοποιητικού και του κεντρικού νευρικού συστήματος. Έχει ρυθμιστικό ρόλο στη μετανάστευση των λευκών αιμοσφαιρίων και των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων σε πολλές φυσιολογικές διεργασίες ως απάντηση στον SDF-1. Στο ανοσοποιητικό σύστημα ο CXCR4 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό από τα μονοκύτταρα, τα B κύτταρα και τα T κύτταρα στο περιφερικό αίμα καθώς και στα πρώιμα προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα στο μυελό των οστών. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο άξονας CXCL12/CXCR4 παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη. Για παράδειγμα, η ανεπάρκεια αυτού του άξονα οδηγεί σε προβλήματα του κυκλοφορικού, του κεντρικού νευρικού συστήματος, του ανοσοποιητικού και του αιμοποιητικού συστήματος.

Από τη στιγμή που θα συνδεθεί ο SDF-1 στον CXCR4 ενεργοποιείται ένας καταρράκτης διαφόρων μονοπατιών κυτταρικής σηματοδότησης που ρυθμίζουν την μετανάστευση, την προσκόλληση, τον πολλαπλασιασμό, την κυτταρική επιβίωση και την χημειοταξία (εικόνα 5.2). Μερικά από αυτά τα μονοπάτια περιλαμβάνουν τη φωσφορυλίωση συστατικών εστιακών προσκολλήσεων, τα ERK1/2 (Extracellular Signal Regulated Kinases 1 και 2), MAPK, JNK, AKT, τη φωσφολιπάση C- γ (PKC- γ), την πρωτεϊνική κινάση C, PI3-K, τη ροή Ca^{++} από τις ενδοκυττάρειες αποθήκες. Ο CXCR4 έχει αποδειχτεί ότι υπερεκφράζεται σε περισσότερους από 23 καρκίνους, συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου του μαστού, των ωοθηκών, το μελάνωμα και του

προστάτη. Αντιθέτως, απουσιάζει από πολλούς φυσιολογικούς ιστούς όπως του μαστού και των ωθηκών. Η έκφραση του CXCR4 στα κακοήθη κύτταρα ενισχύεται με διάφορους μηχανισμούς. Ο VEGF για παράδειγμα ενισχύει την έκφρασή του τον καρκίνο του μαστού αλλά και ο μεταγραφικός παράγοντας HIF-1 στις υποξικές συνθήκες που επικρατούν στους γρήγορα αναπτυσσόμενους όγκους, διευκολύνοντας τις απομακρυσμένες μεταστάσεις. Επίσης ο HIF-1 επάγει τον CXCR4 στα γλοιώματα, οδηγώντας σε αυξημένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, αντίσταση στην απόπτωση και σε τοπική διήθηση. [245] [251] [252] [253]



Εικόνα 5.2 : Το μονοπάτι CXCL12 / CXCR4 / CXCR7. [254]

Τελευταία αποδείχτηκε ότι ο SDF-1 συνδέεται και με ένα δεύτερο υποδοχέα, τον CXCR7 (ή RDC-1), ο οποίος είναι υποδοχέας και για το CXCL11/I-TAC (εικόνα 5.2). Ο CXCR7 σχηματίζει ετεροδιμερή με τον CXCR4. Ο άξονας CXCL11/CXCR7 δεν ενεργοποιεί τυπικά μονοπάτια σηματοδότησης εξαρτώμενα από G πρωτεΐνες. Ο CXCR7 εκφράζεται ευρέως σε φυσιολογικούς ιστούς όπως η καρδιά, ο εγκέφαλος, ο σπλήνας, οι νεφροί, οι πνεύμονες, οι όρχεις, οι ωοθήκες, ο θυρεοειδής και ο πλακούντας. Επίσης αυξορυθμίζεται (“up-regulated”) σε πολλά καρκινικά κύτταρα όπως του καρκίνου του μαστού, του πνεύμονα, του τραχήλου της μήτρας, του παγκρέατος και του προστάτη. Βρέθηκε τέλος ότι εμπλέκεται στην ανάπτυξη και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων όπως επίσης και στην διαδικασία της μετάστασης. [238] [255] [256]

5.4 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ SDF1-3A' SNP

Ένας σημειακός γενετικός πολυμορφισμός της ισομορφής SDF-1β, είναι η μετάβαση (G→A) στη θέση 801 της μη μεταφρασμένης-3' περιοχής του γονιδίου της, ο οποίος κωδικοποιείται ως SDF1-3'A και αρχικά παρατηρήθηκε σε ασθενείς με AIDS. [257] [258] [259] Το αλληλίο "A" αποτελεί στόχο cis-δραστικών παραγόντων, ικανών να αυξορυθμίζουν "up-regulate" την έκφραση της πρωτεΐνης SDF-1, επηρεάζοντας με αυτόν τον τρόπο την εξέλιξη του καρκίνου. [257] [259] [260] Συγκεκριμένα, οι ομοζυγώτες SDF1-3'A (3'A/3'A) θεωρείται ότι παράγουν υψηλότερα επίπεδα SDF-1 σε σύγκριση με τους ομοζυγώτες "wild type" (3'G/3'G). Ωστόσο, αυτή η παρατήρηση απαιτεί επιπρόσθετη επιβεβαίωση. [257] [261] [262] Ο πολυμορφισμός SDF-1 (G→A) έχει διερευνηθεί σε διάφορους τύπους καρκίνων. Σε μια μελέτη είχε φανεί ότι οι φορείς του αλληλόμορφου "A" έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του παγκρέατος, αλλά και όταν εμφανίζουν τη συγκεκριμένη νόσο αυτή έχει πιο επιθετικό χαρακτήρα. [188] Παρόλα αυτά, σήμερα υπάρχουν περιορισμένες πληροφορίες σχετικά με τον ρόλο του στον καρκίνο του στομάχου, γι' αυτό και ένας από τους σκοπούς της μελέτης μας ήταν η διερεύνηση της συσχέτισης αυτού του πολυμορφισμού με τον κίνδυνο ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου. [263] [264] [265] [266] [267] [268] [269] [270] [271]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

Ε – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ

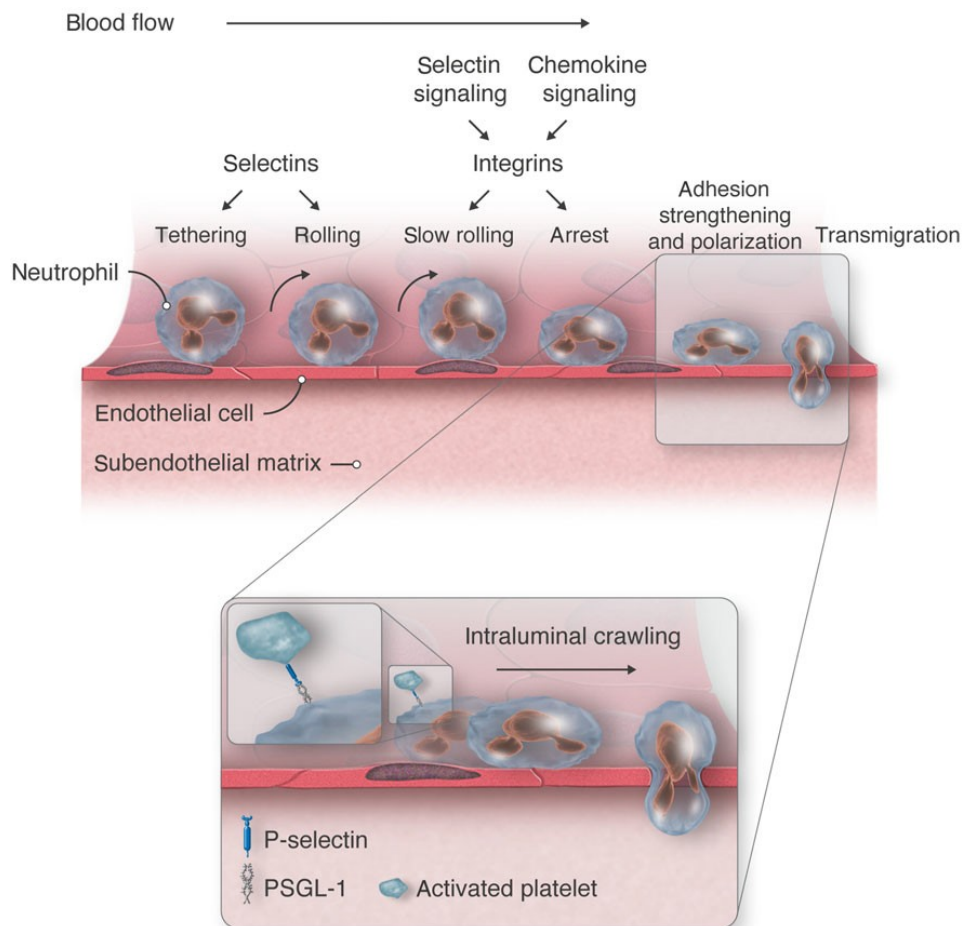
6.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι σελεκτίνες είναι μία οικογένεια μορίων κυτταρικής προσκόλλησης εξαρτώμενες από ιόντα ασβεστίου, με ένα διαμεμβρανικό τμήμα και μία εξωκυτταρική περιοχή λεκτίνης. Έχουν ταυτοποιηθεί τρία μέλη που κατατάσσονται σύμφωνα με την κατανομή τους και το είδος των κυττάρων στα οποία εκφράζονται. Αυτά είναι [272] :

- a) η Ε-Σελεκτίνη (CD62E ή ELAM-1 ή LECAM-2), η οποία ανευρίσκεται στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο
- b) η Ρ-Σελεκτίνη (CD62P ή LECAM-3), η οποία ανευρίσκεται στα αιμοπετάλια και στα ενδοθηλιακά κύτταρα, και
- c) η L-Σελεκτίνη (CD62L ή LAM-1 ή LECAM-1), που ανευρίσκεται στα λεμφοκύτταρα.

Οι σελεκτίνες μεσολαβούν στην προσκόλληση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων στο αγγειακό ενδοθήλιο κατά την διάρκεια της φλεγμονής ή μιας ιστικής βλάβης αλλά και στην εξαγγείωση των καρκινικών κυττάρων και την απόκτηση μεταστατικού δυναμικού από αυτά. [273] [274] [275]

Σε μοριακό επίπεδο, αναγνωρίζουν ολιγοσακχαριδικές αλληλουχίες πάνω σε γλυκοπρωτεΐνες, γλυκολιπίδια ή πρωτεογλυκάνες ρυθμίζοντας την αρχική πρόσδεση των λευκοκυττάρων που κυκλοφορούν ελεύθερα στο αίμα διαμέσου μη μόνιμων δεσμών που επιτρέπουν στα κύτταρα αυτά να “κυλήσουν” κατά μήκος του ενδοθηλίου των αγγείων προς την κατεύθυνση της αιματικής ροής. Η φυσιολογική τους έκφραση είναι αυστηρά ελεγχόμενη έτσι ώστε να περιορίζονται οι φλεγμονώδεις αντιδράσεις, ενώ τροποποιείται στις φλεγμονές και στις καρκινικές μεταστάσεις επιτρέποντας την προσκόλληση στο ενδοθήλιο των λευκοκυττάρων ή των καρκινικών κυττάρων αντίστοιχα. [276] [277](εικόνα 6.1)



Εικόνα 6.1 : Διαδικασία προσκόλλησης των λευκοκυττάρων. [278]

Η πρόοδος που επιτεύχθηκε στη μοριακή και κυτταρική βιολογία διασαφήνισε τον ρόλο αυτών των υποδοχέων σε μία σειρά παθολογικών διαταραχών στις οποίες εμπλέκεται η ανώμαλη διακίνηση των ανοσοκυττάρων. Η Ρ-σελεκτίνη εμπλέκεται σε φλεγμονώδεις διαταραχές όπως η οξεία πνευμονική βλάβη, η ψωρίαση και η ρευματοειδής αρθρίτιδα. Επίσης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αιμόσταση και την αιματογενή διασπορά των καρκινικών κυττάρων. [279]

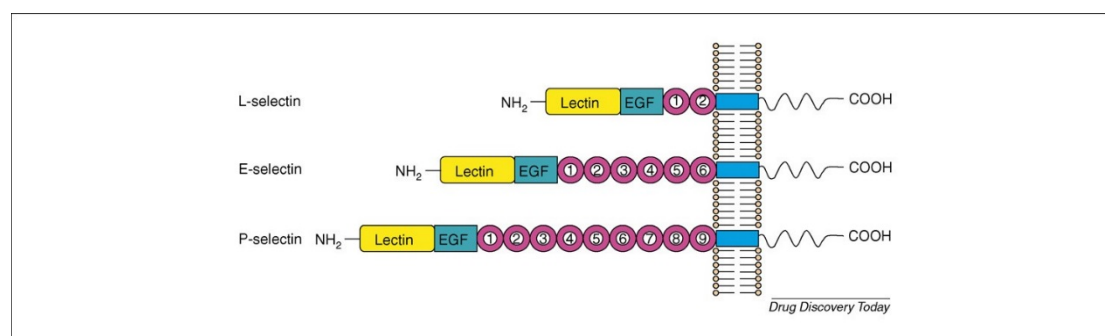
Η Ε-σελεκτίνη είναι τεκμηριωμένο πλέον ότι εμπλέκεται σε πολλές διαταραχές όπως οι φλεγμονώδεις νόσοι, οι καρδιαγγειακές διαταραχές, ο καρκίνος και μεταστάσεις. Από την άλλη πλευρά υπάρχουν λίγα στοιχεία όσον αφορά τη σχέση της L-σελεκτίνης στις διάφορες παθολογίες αν και σε κάποιες μελέτες αναφέρουν αλλαγές σε επίπεδα του υποδοχέα και/ή της διαλυτής της μορφής στον ορό μερικών ασθενών με λοίμωξη HIV, ινσουλινοεξαρτώμενο διαβήτη, μηνιγγική λευχαιμία, πολλαπλή σκλήρυνση και

σήψη. Τέλος η διαλυτή της μορφή βρέθηκε μειωμένη σε ασθενείς με το σύνδρομο Kawasaki και σε ασθενείς με παράγοντες κινδύνου και οξύ ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ακόμα και εν απουσία νόσου. [272] [280]

Το ενδιαφέρον για αυτή την οικογένεια υποδοχέων, έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια ιδίως στο πλαίσιο της δυνατότητας χρήσης τους ως φαρμακολογικού στόχου για την θεραπεία των ασθενών που προαναφέρθηκαν. Έτσι έχουν προταθεί διάφορες στρατηγικές, είτε εμποδίζοντας την έκφρασή τους είτε χρησιμοποιώντας τους ως μοριακούς στόχους για θεραπευτικές ή διαγνωστικές ουσίες. [272]

6.2 E-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ

Η δομή της E-σελεκτίνης (64 KDa) αποτελείται από μία N-τελική περιοχή λεκτίνης, ένα μοτίβο που μοιάζει με τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (EGF), και 6 επαναλαμβανόμενα μοτίβα (από 60 αμινοξέα το καθένα) παρόμοια με αυτά που βρίσκονται στις πρωτεΐνες δέσμησης του συμπληρώματος. Οι δύο πρώτες προαναφερόμενες περιοχές (Lectine-like και EGF-like) είναι αυτές που μεσολαβούν στην αλληλεπίδραση με τα λευκοκύτταρα. [281] [282] (εικόνα 6.2)



Εικόνα 6.2 : Δομή των σελεκτινών. [275]

Η E-σελεκτίνη δεν εκφράζεται συνεχώς στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η έκφραση της επάγεται από μόρια φλεγμονής όπως ο TNF- α , η ιντερλευκίνη -1 και ο βακτηριακός πολυσακχαρίτης (LPS). [283] Η έκφραση της είναι μέγιστη 4 ώρες μετά τη διέγερση των κυτοκινών και μειώνεται γρήγορα μετά. Οι υποδοχείς της E-σελεκτίνης, από την έξω επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης ενσωματώνονται μέσα στο κύτταρο με την

διαδικασία της ενδοκυττάρωσης και καταστρέφονται από τα λυσοσώματα έτσι ώστε μετά από 24 ώρες να μην είναι πλέον ανιχνεύσιμοι. [284]

Μία διαλυτή μορφή της E-σελεκτίνης (sE-Selectin) παράγεται ως αποτέλεσμα πρωτεολυτικής αποκοπής από την κυτταρική επιφάνεια και η συγκέντρωση της σχετίζεται άμεσα με την έκφραση της στην κυτταρική επιφάνεια. Ο ρόλος της δεν είναι ακριβής, αν και έχει διαπιστωθεί ότι παίζει ρόλο στην χημειοταξία των ουδετερόφιλων προκαλώντας την μετανάστευση τους, αλλά και ότι μπορεί να περιορίσει την “κύλιση” των ενεργοποιημένων λευκοκυττάρων που εξαρτάται από την E-σελεκτίνη, αναγνωρίζοντας τις θέσεις πρόσδεσης στην επιφάνειά τους, μειορυθμίζοντας “down-regulating” την φλεγμονώδη αντίδραση. Έτσι η συγκέντρωση στον ορό της sE-Selectin μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης ενεργοποίησης του ενδοθηλίου και ως εκ τούτου είναι χρήσιμη ως κλινικό εργαλείο διάγνωσης των όγκων και οξέων φλεγμονωδών αντιδράσεων. [285] [286]

Η E-σελεκτίνη αναγνωρίζει διάφορους προσδέτες, όπως ο ESL-1 (E-selectin ligand-1) ο οποίος προσδένεται ειδικά στην E-σελεκτίνη και όχι στην -P ή την -L, η PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1), η L-σελεκτίνη, ο CD43, ο CD44, οι β2 ιντεγκρίνες και ο DR3 (death receptor-3). [272] [287] Οι σελεκτίνες αναγνωρίζουν ειδικά ολιγοσακχαριδικά μοτίβα, όπως το SLE^x (Sialyl lewis x) και το SLE^a (Sialyl lewis a) που ανευρίσκονται στο δομικό άκρο γλυκοπρωτεϊνών και γλυκολιπιδίων στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων και των καρκινικών κυττάρων. Τεχνητά ανάλογα του αντιγόνου SLE^x έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση και τη δέσμευσή της E-Σελεκτίνης. [288] [289] [290]

Η αλληλεπίδραση της E-Σελεκτίνης με τους προσδέτες της, οδηγεί στην “κύλιση” των λευκοκυττάρων πάνω στα φλεγμονώδη ενδοθηλιακά κύτταρα που είναι το πρώτο βήμα στην προσκόλληση και την μετανάστευση τους στους ιστούς. [291]

6.3 ΡΟΛΟΙ ΤΗΣ E-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ

6.3.1 E-Σελεκτίνη και φλεγμονή

Η E-Σελεκτίνη εκφράζεται στο ενδοθήλιο κατά τη διάρκεια οξέων και χρόνιων φλεγμονωδών αντιδράσεων μεσολαβώντας σε αντιδράσεις προσκόλλησης των

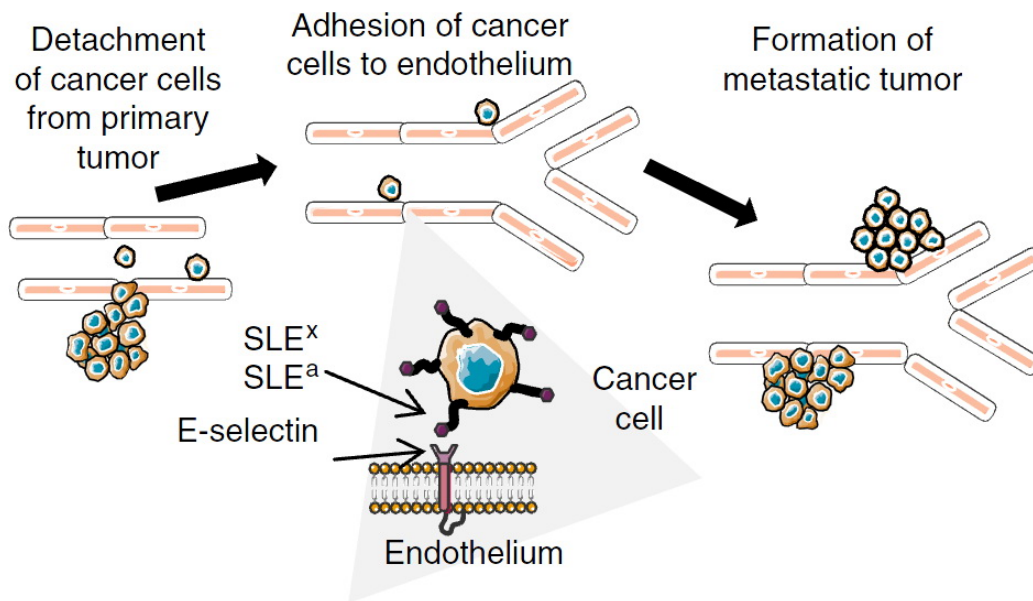
λευκοκυττάρων. [292] Η Ε-Σελεκτίνη έχει ανιχνευτεί στο αγγειακό ενδοθήλιο του ήπατος σε ασθενείς με πρωτογενή χολική κίρρωση, οξεία απόρριψη αλλομοσχεύματος, αλκοολική ηπατική νόσο, αλλά όχι σε φυσιολογικό ηπατικό ενδοθήλιο. [293] Επίσης έχει ανιχνευτεί σε αγγειακό πνευμονικό ενδοθήλιο σε χρόνια βρογχίτιδα, οφθαλμικό ενδοθήλιο σε νόσο Graves και στο αρθρικό ενδοθήλιο σε ρευματοειδή αρθρίτιδα. Ακόμη υψηλά επίπεδα της διαλυτής μορφής (sE-Selectin) έχουν βρεθεί σε ασθενείς με φλεγμονώδεις νόσους, όπως το βρογχικό άσθμα, το έκζεμα, η νόσος Graves, το σύνδρομο Guillain–Barre, η νόσος Kawasaki, η ατοπική δερματίτιδα, η ψωρίαση και η φλεγμονώδη νόσος του εντέρου. [272]

6.3.2 Ε-Σελεκτίνη και αγγείωση καρκινικών όγκων

Ο παθολογικός ρόλος της Ε-σελεκτίνης δεν περιορίζεται μόνο σε φλεγμονώδεις διαταραχές. Έχει ανιχνευτεί και σε καρκινικούς ιστούς υποδεικνύοντας την εμπλοκή της στην παθογένεση αυτής της νόσου. [294] Η Ε-σελεκτίνη έχει ανιχνευτεί στην επιφάνεια ενδοθηλιακών κυττάρων μικρών αγγείων κοντά σε εστίες κολοορθικού καρκίνου, σε αγγεία γαστρικού καρκίνου (κυρίως σε όγκους υψηλής αγγειοβρίθειας) καθώς και σε καρκίνους κεφαλής τραχήλου και μαστού. [295] [296] [297] [298]

6.3.3 Ε-Σελεκτίνη και μετάσταση

Η Ε-σελεκτίνη κατέχει σημαντικό ρόλο στη μεταστατική διαδικασία. Η προσκόλληση των καρκινικών κυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο του οργάνου στόχου είναι το βασικό βήμα στην διαδικασία της μετάστασης. Είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι το σύμπλοκο SLE^x/Ε-σελεκτίνη εμπλέκεται στην διαδικασία της μετάστασης με ένα μηχανισμό παρόμοιο με αυτόν της προσκόλλησης των ανοσοκυττάρων. (εικόνα 6.3) [299] Η Ε-σελεκτίνη εμπλέκεται στις ηπατικές μεταστάσεις από καρκίνο μαστού, κολοορθικό καρκίνο και γαστρικό καρκίνο όπως επίσης και στις οστικές μεταστάσεις από καρκίνο του προστάτη. [295] [300] [301] [302]



Εικόνα 6.3 : Διαδικασία της μετάστασης. [272]

6.4 Ε-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ

Έχουν περιγραφεί διάφοροι πολυμορφισμοί του γονιδίου της Ε-σελεκτίνης. Ο γενετικός πολυμορφισμός S128R είναι ο πιο κοινός στον Καυκάσιο πληθυσμό [303]. Οδηγεί στην αντικατάσταση μιας σερίνης από μια αργινίνη στην θέση 128 στην εξωκυττάρια περιοχή του υποδοχέα και σχετίζεται με την αύξηση της προσκολλητικότητας των λευκοκυττάρων και των μυελοειδών κυττάρων στο ενδοθήλιο. [304] [305] [306] [307]

Επίσης ο γενετικός πολυμορφισμός S128R έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με την ιδιοπαθή υπέρταση, την φλεγμονώδη νόσο του εντέρου και την αθηροσκλήρωση αποδεικνύοντας μια αυξημένη αλληλεπίδραση ανάμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα λευκοκύτταρα. [307] [308] [309]

Επιπλέον η συχνότητά του πρόσφατα βρέθηκε αυξημένη σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου και σε ασθενείς με καρκίνο παγκρέατος. [310] [311] Ωστόσο, λίγα είναι γνωστά σχετικά με τις συνέπειες των πολυμορφισμών της Ε-σελεκτίνης σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο. [312]

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός του ερευνητικού πρωτοκόλλου ήταν η μελέτη της κασπάσης -8, της κασπάσης -9, της σουρβιβίνης, του SDF-1, της E-σελεκτίνης και των γενετικών πολυμορφισμών τους σε μια σειρά γαστρικών καρκίνων από ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν χειρουργικά κατά την τελευταία 5ετία. Η ετερογένεια των ογκολογικών ασθενών που αντιμετωπίζονται στην κλινική, που οφείλεται στην προέλευση των ασθενών από ποικίλα τμήματα της Ελλάδας, βοήθησε στη συγκέντρωση ενός αντιπροσωπευτικού δείγματος από τον Ελληνικό χώρο, το οποίο με τη σειρά του συγκρίθηκε όσον αφορά την ύπαρξη των επιλεγμένων γενετικών πολυμορφισμών με φυσιολογικό δείγμα ελέγχου. Η κλινική αξιολόγηση των μοριακών και ιστολογικών ευρημάτων, όσον αφορά την έκφραση των παραγόντων και των γενετικών πολυμορφισμών επιτεύχθηκε με τη συσχέτισή τους με τις γνωστές, γενικά αποδεκτές, παθολογοανατομικές και κλινικές προγνωστικές παραμέτρους.

Οι κύριοι παρακάτω αντίστοιχοι γενετικοί πολυμορφισμοί ανιχνεύτηκαν με PCR-RFLP.

1. Εκκινητή της CASP9 -1263 A>G και CASP8 -652 6N ins/del
2. Εκκινητή της σουρβιβίνης -31C>G SNP
3. SDF1-3A' SNP
4. E-σελεκτίνη S128R SNP

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΥΛΙΚΑ, ΜΕΘΟΔΟΙ

8.1 Ασθενείς

Στην παρούσα μελέτη «ασθενών - μαρτύρων» νοσοκομειακής βάσης, συμμετείχαν 88 ασθενείς με γαστρικό καρκίνο και 480 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου). Όλοι οι ασθενείς αλλά και τα άτομα της ομάδας ελέγχου, γεννήθηκαν και έζησαν στην Ελλάδα. Η μελέτη έλαβε έγκριση από την επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας και το Επιστημονικό συμβούλιο. Δόθηκε, επίσης, έγγραφη συγκατάθεση από τους ασθενείς ή τους πλησιέστερους συγγενείς αυτών. Η ομάδα ελέγχου ήταν υγιείς δότες, με το ίδιο προφίλ (ηλικία, φύλο, εθνικότητα) με τους ασθενείς (που επιλέχθηκαν τυχαία από τη βάση δεδομένων DNA του νοσοκομείου) χωρίς στοιχεία κακοήθειας ή αυτοάνοσης νόσου. Οι ασθενείς αποτελούνταν από 62 άνδρες και 26 γυναίκες, με μέση ηλικία $63,33 \pm 12,13$ έτη, με μέσο όρο 70 και εύρος 27 – 82 έτη. Όλοι νοσηλεύτηκαν στο Γ.Ν.Α. "ΛΑΙΚΟ" και υποβλήθηκαν σε γαστρεκτομή. Παρακολούθηθηκαν μέχρι τον Αύγουστο του 2010, με μέσο διάστημα παρακολούθησης $36,27 \pm 19,5$ μήνες και εύρος 6 – 60 μήνες. Η παρακολούθηση 17 ασθενών δεν ολοκληρώθηκε καθώς δεν μπόρεσε να υπάρξει επικοινωνία μαζί τους.

Έγινε σταδιοποίηση των δειγμάτων κατά TNM και ταξινόμηση τους κατά στάδιο τη στιγμή της διάγνωσης, κατά ιστολογικό τύπο, κατά μέγεθος όγκου και κατά θετικότητα ή αρνητικότητα για λεμφαδενικές ή άλλου τύπου μεταστάσεις. Σύμφωνα με την ταξινόμηση TNM, 24 ασθενείς ήταν σταδίου I (27,27%), 16 σταδίου II (18,18%), 27 σταδίου III (30,68%) και 21 σταδίου IV (23,86%). Επίσης 62 άτομα είχαν λεμφαδενικές μεταστάσεις ενώ 22 είχαν απομακρυσμένες σε άλλα όργανα. Τέλος 39 αδενοκαρκινώματα ήταν εντερικού τύπου κατά Lauren και 49 διαχύτου ενώ τα 40 από τα 88 είχαν μέγεθος πάνω από 5 cm διάμετρο. (πίνακας 8.1)


















ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΓΑΣΤΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ, n
Μέση ηλικία (έτη), \pm SD	63.33 \pm 12.13
Άνδρες / Γυναίκες	62/26
Λεμφαδενικές Μεταστάσεις	
Αρνητικές	26
Θετικές	62
Άλλες Μεταστάσεις	
Αρνητικές	66
Θετικές	22
Στάδιο Νόσου τη στιγμή της διάγνωσης	
I	24
II	16
III	27
IV	21
Μέγεθος Όγκου (cm)	
\leq 5	40
$>$ 5	48
Ταξινόμηση κατά Lauren	
Εντερικού Τύπου	39
Διαχύτου Τύπου	49

Πίνακας 8.1 : Ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών με Γαστρικό Καρκίνο κατά τη διάγνωση της νόσου

8.2 Γονοτυπική Ανάλυση

Για την γονοτυπική ανάλυση των πολυμορφισμών της CASP8 (-652 6N ins/del), CASP9 (-1263 A>G), E-σελεκτίνης S128R, SDF1-3A' και της σουρβιβίνης -31C>G απομονώθηκε γονιδιωματικό DNA από καρκινικό ιστό των ασθενών που είχαν γαστρικό καρκίνο, εμποτισμένο σε παραφίνη, και από περιφερικό αίμα των ατόμων της ομάδας ελέγχου. Έγινε με χρήση του NucleoSpin Blood kit (Macherey-Nagel, GmbH & Co. KG, Dueren, Germany) ακολουθώντας τις οδηγίες χρήσεως της κατασκευάστριας εταιρίας. (Εικόνα 8.1)

Genomic DNA from blood Protocol-at-a-glance (Rev. 13)

	Mini NucleoSpin® Blood	Midi NucleoSpin® Blood L	Maxi NucleoSpin® Blood XL	Mini NucleoSpin® Blood QuickPure
1 Lyse blood samples	 200 µL blood 25 µL Pro.K 200 µL B3 Mix 70 °C, 10–15 min	 2 mL blood 150 µL Pro.K 2 mL BQ1 Mix 56 °C, 10–15 min	 10 mL blood 500 µL Pro.K 10 mL BQ1 Mix 56 °C, 10–15 min	 200 µL blood 25 µL Pro.K 200 µL BQ1 Mix 70 °C, 10–15 min
2 Adjust DNA binding conditions	210 µL ethanol	2 mL ethanol	10 mL ethanol	200 µL ethanol
3 Bind DNA	 Load all 11,000 x g, 1 min	 Load 3 mL 4,500 x g, 3 min	 Load 15 mL 4,000 x g, 3 min	 Load all 11,000 x g, 1 min
	—	Load 3 mL of residue 4,500 x g, 5 min	Load 15 mL of residue 4,000 x g, 3 min	—
4 Wash silica membrane	 500 µL BW 600 µL B5 1 st wash 11,000 x g, 1 min 2 nd wash 11,000 x g, 1 min	 2 mL BQ2 2 mL BQ2 4,500 x g, 2 min 4,500 x g, 10 min	 7.5 mL BQ2 7.5 mL BQ2 4,000 x g, 2 min 4,000 x g, 10 min	 350 µL BQ2 11,000 x g, 3 min
5 Dry silica membrane	 11,000 x g, 1 min	Drying is performed during centrifugation of the last washing step	Drying is performed during centrifugation of the last washing step	Drying is performed during centrifugation of the last washing step
6 Elute highly pure DNA	 100 µL BE, (70 °C) RT, 1 min 11,000 x g 1 min	 200 µL BE (70 °C), RT, 2 min 4,500 x g, 2 min	 500 µL– 2000 µL BE (70 °C) RT, 2 min 4,000 x g, 2 min	 50 µL BE (70 °C) RT, 1 min 11,000 x g, 1 min

Εικόνα 8.1 : Απεικόνιση των διαδικασιών που ακολουθούνται για την απομόνωση του γενετικού υλικού σύμφωνα με το εγχειρίδιο χρήσης του NucleoSpin Blood Kit

Το γονιδιωματικό DNA υπέστη καθαρισμό με την εξής διαδικασία:

1. Έγινε απομόνωση 200 ml αίματος, το οποίο αναδεύτηκε με 25 ml πρωτεΐνωση Κ. Η πρωτεΐνωση Κ μπορεί και προκαλεί πέψη των πρωτεϊνών του αίματος, όπως επίσης μπορεί και απομακρύνει τις ακαθαρσίες του νουκλεϊκού οξέος, βοηθώντας με αυτόν τον τρόπο στον καθαρισμό του DNA.
2. Εν συνεχεία προστέθηκε 200 ml λυτικού διαλύματος BQ1, το οποίο έχει την ικανότητα να διαλύει την κυτταρική και την πυρηνική μεμβράνη, συμβάλλοντας έτσι στην απελευθέρωση του DNA.
3. Ακολούθησε ταχεία ανάδευση (vortex).
4. Τα δείγματα μπήκαν σε υδατόλουτρο στους 70 °C για 10 - 15 λεπτά, ενισχύοντας τη δράση των διαλυμάτων και προκαλώντας σταδιακή αλλαγή στο χρωματισμό τους.
5. Μετά από 10 - 15 λεπτά, τα δείγματα αφέθηκαν να κρυσώσουν και προστέθηκαν 200 ml αιθανόλης. Σε αυτό το στάδιο επιτυγχάνεται το ξετύλιγμα και η κατακρήμνιση του DNA.
6. Ταχεία ανάδευση (vortex).
7. Μεταφορά δειγμάτων σε ειδικές κολώνες που περιείχαν μια ειδική μεμβράνη πυριτίου.
8. Φυγοκεντρήθηκαν για 1 min στις 11000 rpm.
9. Τοποθέτηση ενός καινούργιου συλλεκτικού σωληνάριου σε κάθε κολώνα και πρόσθεση 350 ml αλκοολούχου διαλύματος BQ2, το οποίο ξεπλένει τη μεμβράνη πυριτίου. Το DNA δεσμεύεται με τα ιόντα του πυριτίου στη μεμβράνη και το διάλυμα BQ2 ξεπλένει τη μεμβράνη από τις προσμίξεις που μπορεί να υπάρχουν στο DNA.
10. Φυγοκεντρήθηκαν για 3 min στις 11000 rpm.
11. Έγινε τοποθέτηση της μεμβράνης σε νέο σωληνάκι τύπου eppendorf και προθερμάθηκε στους 70°C.
12. Στο κέντρο της μεμβράνης έγινε πρόσθεση 50 ml διαλύματος BE.
13. Τα δείγματα επώαστηκαν για 2 min σε θερμοκρασία δωματίου.
14. Φυγοκεντρήθηκαν για 1 min στις 11000 rpm.

15. Το διάλυμα BE λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης αλάτων που έχει, μπορεί και απελευθερώνει το DNA που έχει δεσμεύσει η μεμβράνη πυριτίου. Έτσι το τελικό προϊόν DNA που έχει συλλεχτεί στο σωληνάκι τύπου erpendorf είναι καθαρό προϊόν και φυλάσσεται στους -20 °C για περαιτέρω χρήση.

Η γονοτυπική ανάλυση των πολυμορφισμών διεξήχθη χρησιμοποιώντας την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης και ανάλυσης πολυμορφισμού μήκους θραυσμάτων εκ περιορισμού (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphisms – “PCR-RFLP”).

Προς επιβεβαίωση της ακεραιότητας του DNA, κατά τη γονοτύπιση των κασπασών, αρχικά, πολλαπλασιάστηκε μια ακολουθία 430 ζευγών βάσης του ανθρώπινου γονιδίου της αφυδρογονάσης της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεΐδης (GAPDH).

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για την γονοτύπιση της **CASP8** ήταν:

- Πρόσθιος: 5'-CTGCATGCCAGGAGCTAAGT-3'
- Ανάστροφος: 5'-GCCATAGTAATTCTTGCTCTGC-3'

Στην αντίδραση PCR η θερμοκρασία αποδιάταξης των εκκινητών (Tm) ήταν 58°C. Τα προϊόντα της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης υπέστησαν τη διαδικασία της πέψης με τη δράση του περιοριστικού ενζύμου XspI (BioLabs). Το αλλήλιο “6N ins” διασπάστηκε από το ένζυμο, αποδίδοντας δύο θραύσματα (146 και 31 bp), ενώ το αλλήλιο “6N del” απέδωσε προϊόντα 171 bp.

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για την γονοτύπιση της **CASP9** ήταν:

- Πρόσθιος: 5'-GGGAATACTTTCCTGGCAGG-3'
- Ανάστροφος: 5'-GTCTTCCATTCCTCTTCCG(C!G)TC-3'

Η διαδικασία πολλαπλασιασμού περιλάμβανε τα εξής στάδια :

- 1) Αρχική αποδιάταξη των αλυσίδων του DNA με θέρμανση σε θερμοκρασία 94°C για 5 λεπτά
- 2) 35 κύκλοι αποδιάταξης στους 94°C για 30 sec
- 3) Μείωση της θερμοκρασίας στους 59°C για 90 sec και υβριδισμός των εκκινητών στις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες στο εκμαγείο DNA

4) Αύξηση της θερμοκρασίας στους 72°C και επιμήκυνση των εκκινητών για 90 sec

5) Τελική επιμήκυνση στους 72°C για 5 min

Τα προϊόντα της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης υπέστησαν τη διαδικασία της πέψης κατά τη διάρκεια της νύχτας στους 37 °C με τη δράση του περιοριστικού ενζύμου BsmAI (New England BioLabs Inc, Ipswich, Mass). Τα προϊόντα της διαδικασίας του περιορισμού διαλύθηκαν σε πήκτωμα ακρυλαμίδης 6% και βάφτηκαν με βρωμιούχο αιθίδιο προκειμένου να επισκοπηθούν υπό υπεριώδες φως.

Οι μεταλλάξεις επιβεβαιώθηκαν με ανάλυση αλληλουχιών χρησιμοποιώντας το Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) και μία αυτόματη συσκευή αλληλούχισης ABI 377. Ως αρνητικούς μάρτυρες κατά τη διαδικασία ενίσχυσης PCR, χρησιμοποιήθηκε απεσταγμένο νερό αντί για γονιδιωματικό DNA και επιβεβαιώθηκε η πιστότητα των αντιδράσεων.

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για την γονοτύπιση του **SDF-1** ήταν (GenBank accession number L36033) :

➤ Πρόσθιος: 5'-CAGTCAACCTGGGCAAAGCC-3'

➤ Ανάστροφος: 5'-CCTGAGAGTCCTTTTGCGGG-3'

Η διαδικασία πολλαπλασιασμού περιλάμβανε τα εξής στάδια :

1) Αρχική αποδιάταξη των αλυσίδων του DNA με θέρμανση σε θερμοκρασία 94°C για 5 λεπτά

2) 35 κύκλοι αποδιάταξης στους 94°C για 30 sec

3) Μείωση της θερμοκρασίας στους 57°C για 90 sec και υβριδισμός των εκκινητών στις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες στο εκμαγείο DNA

4) Αύξηση της θερμοκρασίας στους 72°C και επιμήκυνση των εκκινητών για 90 sec

5) Τελική επιμήκυνση στους 72°C για 5 min

Τα προϊόντα της PCR (293 bp) υπέστησαν τη διαδικασία της πέψης με το περιοριστικό ένζυμο HpaII. Τα αλλήλια SDF-1 “wild type” απέδωσαν προϊόντα 100 και 293 bp ενώ τα αλλήλια SDF1-3A' (με τον πολυμορφισμό) απέδωσαν προϊόντα 293 bp.

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για την γονοτύπιση της **σουρβιβίνης** ήταν:

- Πρόσθιος: 5'-GTTCTTTGAAAGCAGTCGAG-3'
- Ανάστροφος: 5'-GCCAGTTCTTGAATGTAGAG-3'

Η διαδικασία πολλαπλασιασμού περιλάμβανε τα εξής στάδια :

- 1) Αρχική αποδιάταξη των αλυσίδων του DNA με θέρμανση σε θερμοκρασία 94°C για 5 λεπτά
- 2) 35 κύκλοι αποδιάταξης στους 94°C για 30 sec
- 3) Μείωση της θερμοκρασίας στους 57°C για 90 sec και υβριδισμός των εκκινητών στις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες στο εκμαγείο DNA
- 4) Αύξηση της θερμοκρασίας στους 72°C και επιμήκυνση των εκκινητών για 90 sec
- 5) Τελική επιμήκυνση στους 72°C για 5 min

Τα προϊόντα της PCR (341 bp) υπέστησαν τη διαδικασία της πέψης με το περιοριστικό ένζυμο EcoO109I (New England Biolabs Inc., Ipswich, MA, USA) στους 37°C για 18 ώρες. Το αλλήλιο G διασπάστηκε από το ένζυμο, αποδίδοντας δύο θραύσματα (236 και 105 bp), ενώ το αλλήλιο C δεν υπέστη πέψη.

Τα προϊόντα της διαδικασίας του περιορισμού αναλύθηκαν μέσω ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και επισκόπησης σε υπεριώδες φως μετά από χρώση με βρωμιούχο αιθίδιο.

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για την γονοτύπιση της **E-σελεκτίνης** ήταν:

- Πρόσθιος: 5'-AAA ATC AAA GGC ACT CAG TAT AAG CA-3'
- Ανάστροφος: 5'-GAA CGT GAG ATG GTG CTA CCA-3'

Τα προϊόντα της PCR υπέστησαν τη διαδικασία της πέψης με το περιοριστικό ένζυμο PstI. Τα προϊόντα της διαδικασίας του περιορισμού αναλύθηκαν μέσω ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα αγαρόζης 2% και επισκόπησης σε υπεριώδες φως μετά από χρώση με βρωμιούχο αιθίδιο.

8.3 Στατιστική ανάλυση

Στην περίπτωση της μελέτης των πολυμορφισμών της CASP8 και της CASP9, για την σύγκριση των συχνοτήτων των γονοτύπων και των αλληλίων, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία χ^2 (chi-square test) με διόρθωση Yates στο S-Plus (v. 6.2; Insightful, Seattle, WA, USA). Οι λόγοι σχετικών πιθανοτήτων (ORs) και τα διαστήματα εμπιστοσύνης (95% confidence intervals - CIs) υπολογίστηκαν με το λογισμικό GraphPad (v. 3.00; GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Οι τιμές σημαντικότητας p (p-values) ήταν δίπλευρες. Η ισορροπία Hardy–Weinberg εκτιμήθηκε από τον υπολογισμό των αναμενόμενων συχνοτήτων και τιμών, και οι δοκιμασίες σημαντικότητας βασίστηκαν στον έλεγχο καλής προσαρμογής χ^2 (goodness-of-fit χ^2 -test). Στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι τιμές $p < 0,001$. Αν και ασθενείς, παραμένουν σημαντικές και αξίζουν προσοχής, και οι τιμές $0,01 < p < 0,05$.

Σε ότι αφορά στην στατιστική ανάλυση των πολυμορφισμών της E-σελεκτίνης, του SDF-1 και της σουρβιβίνης, αυτή πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια του στατιστικού λογισμικού πακέτου SPSS για τα Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Οι συχνότητες και οι ευαισθησίες των πολυμορφισμών συγκρίθηκαν με την δοκιμασία χ^2 (chi-square test). Οι λόγοι σχετικών πιθανοτήτων (ORs) και τα διαστήματα εμπιστοσύνης (95% confidence intervals - CIs) υπολογίστηκαν με την αντίστοιχη δοκιμασία κατανομής χ^2 . Οι τιμές σημαντικότητας p (p-values) ήταν δίπλευρες και στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι τιμές $p < 0,05$. Η ισορροπία Hardy–Weinberg εκτιμήθηκε από τον υπολογισμό των αναμενόμενων συχνοτήτων και τιμών, και δοκιμάστηκε ξεχωριστά σε ασθενείς και μάρτυρες με τον έλεγχο καλής προσαρμογής χ^2 (goodness-of-fit χ^2 -test).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

9.1 Γενετικοί πολυμορφισμοί CASP8 (-652 6N ins/del) και CASP9 (-1263 A>G)

Μελετήθηκε η συσχέτιση των γενετικών πολυμορφισμών CASP8 (-652 6N ins/del) και CASP9 (-1263 A>G) στην προδιάθεση για γαστρικό καρκίνο. Οι γονοτυπικές κατανομές των πολυμορφισμών των 2 γονιδίων ήταν σε ισορροπία Hardy – Weinberg. Στον (Πίνακα 9.1) φαίνονται οι συχνότητες των γονοτύπων και των αλληλίων των πολυμορφισμών των γονιδίων της CASP8 και CASP9 στους υγιείς μάρτυρες και στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο. Ο γονότυπος -652 6N del/del ήταν στατιστικά σημαντικά πιο συχνός στους υγιείς (22.08%) έναντι (12.5%) στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο ($p=0.005$) ενώ το αλληλίο del -652 6N ήταν σημαντικά συχνότερο στην ομάδα ελέγχου σε σχέση με τους ασθενείς (48.54% vs 36.36%, $P = 0.004$). Οι φορείς των γονοτύπων -652 6N del/ins ή del/del είχαν λιγότερες πιθανότητες να αναπτύξουν γαστρικό καρκίνο σε σχέση με τους φορείς των υπολοίπων γονοτύπων. Όσον αφορά τον πολυμορφισμό CASP9 -1263 A>G το αλληλίο G παρατηρήθηκε σε μεγαλύτερη συχνότητα στους υγιείς απ' ό τι στους ασθενείς (50.94% vs 30.68%, $P < 0.0001$). Τέλος ασθενείς με γονότυπο CASP9 -1263 AG ή GG είχαν μικρότερη πιθανότητα να αναπτύξουν γαστρικό καρκίνο συγκριτικά με τους άλλους γονοτύπους.

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική στατιστικά συσχέτιση των πολυμορφισμών της CASP8 και CASP9 με τα παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά των όγκων (στάδιο, βαθμός διαφοροποίησης). Για να αναλυθεί το συνδυαστικό αποτέλεσμα αυτών των πολυμορφισμών, έγινε ανάλυση αλληλεπίδρασης γονιδίου-γονιδίου. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.

Πληροφορίες σχετικές με την επιβίωση από το follow up, ήταν διαθέσιμες για όλους τους ασθενείς (Πίνακα 9.2). Το μέσο διάστημα παρακολούθησης ήταν 36,27 μήνες με εύρος 6 – 60 μήνες. Συνολικά 17 ασθενείς απεβίωσαν λόγω του γαστρικού καρκίνου κατά τη διάρκεια του follow up. Ο σχετικός στιγμιαίος κίνδυνος των γονοτύπων της

CASP8 και της CASP9 των ασθενών για την συνολική συγκεκριμένη επιβίωση φαίνεται στον (πίνακα 9.2) . Οι γονότυποι CASP8 -652 6N ins/ins και CASP9 -1263 AA συνδέονται με χαμηλή επιβίωση. (σχήμα 9.1)

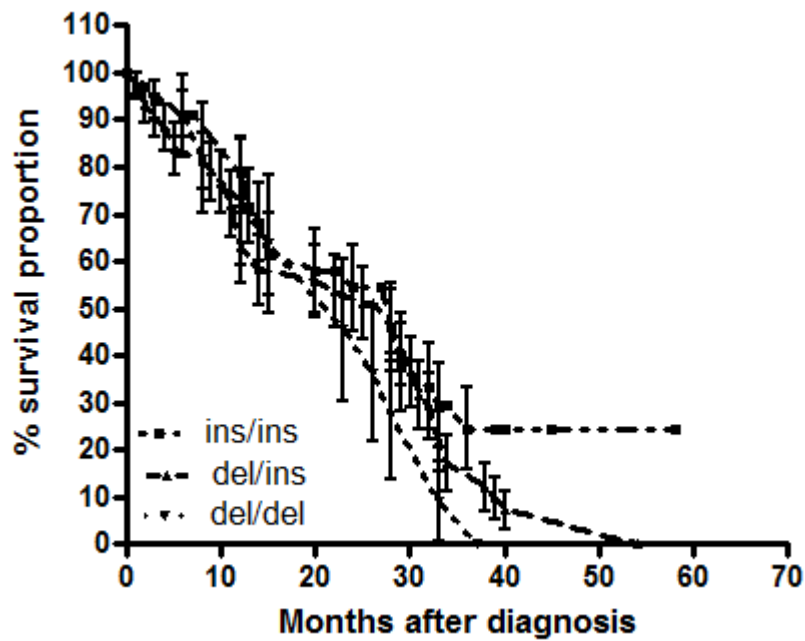
Γονότυποι	Cases, <i>n</i> (%) (<i>n</i> = 88)	Controls, <i>n</i> (%) (<i>n</i> = 480)	<i>P</i> -value; OR (95%CI)
<i>Caspase 8</i>			
6 N			
ins/ins	35 (39.77)	120 (25)	Reference
del/ins	42 (42.73)	254 (52.92)	0.03; 0.57 (0.34 - 0.93)
del/del	11 (12.5)	106 (22.08)	0.005; 0.35 (0.17- 0.73)
(del/ins) + (del/del)	53 (60.23)	360 (75)	0.006; 0.50 (0.31- 0.81)
ins αλλήλιο	112 (63.64)	494 (51.46)	Reference
del αλλήλιο	64 (36.36)	466 (48.54)	0.004; 0.61 (0.44 – 0.85)
<i>Caspase 9</i>			
-1263 A > G			
AA	44 (50)	116 (24.16)	Reference
AG	34 (38.64)	239 (49.79)	0.0001; 0.37 (0.23 - 0.62)
GG	10 (11.36)	125 (26.04)	< 0.0001; 0.21 (0.10 - 0.44)
AG + GG	44 (50)	364 (75.83)	< 0.0001; 0.32 (0.19 - 0.51)
A αλλήλιο	122 (69.32)	471 (49.06)	Reference
G αλλήλιο	54 (30.68)	489 (50.94)	< 0.0001; 0.43 (0.30 - 0.60)

Πίνακας 9.1 : Πολυμορφισμοί της CASP8 -652 -6N ins/del και CASP9 -1263 A>G και προδιάθεση για γαστρικό καρκίνο

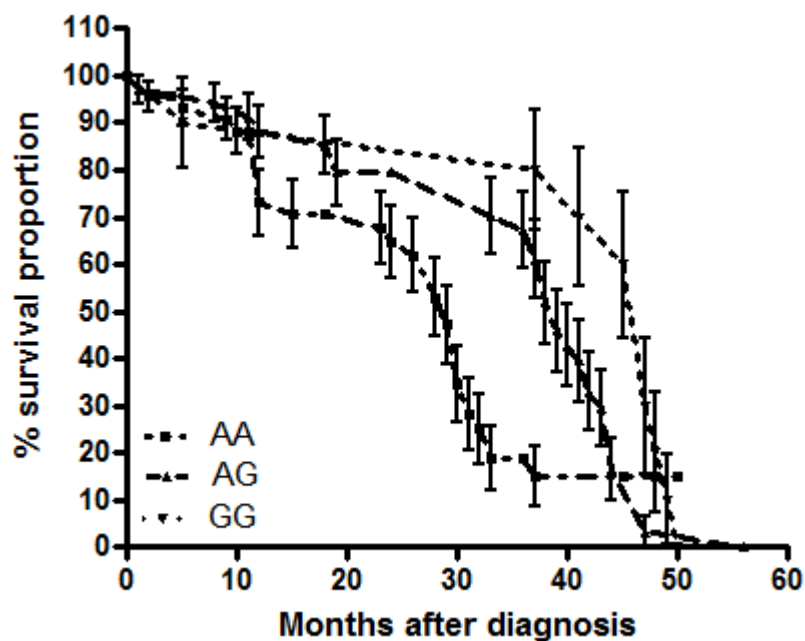
Genotypes	Overall survival			<i>P</i> value
	Events (n)	5-years survival (%) [*]	Hazard ratio (95%CI)	
Caspase 8 -6N ins/del				
ins/ins (35)	14	57.21	1.00 (reference)	
del/ins (42)	3	52.55	5.90 (2.09-16.6)	0.0008
del/del (11)	0	58.58	3.74 (0.83-16.86)	0.086
Caspase 9 -1263 A>G				
AA (44)	15	56.07	1.00 (reference)	
AG (34)	2	61.86	5.87 (2.18-15.8)	0.0004
GG (10)	0	57	6.27 (1.97-19.99)	0.0019

^{*}Proportion of survival derived from Kaplan–Meier analysis

Πίνακας 9.2 : Γονότυποι CASP8 -6N ins/del και CASP9 -1263 A>G και συσχέτιση με την συνολική επιβίωση στον GC



A.



B.

Σχήμα 9.1 : Καμπύλες επιβίωσης Kaplan–Meier ασθενών με γαστρικό καρκίνο

(A) CASP8 -6N ins/del και (B) γονότυποι CASP9 -1263 A>G

9.2 Γενετικοί πολυμορφισμοί SDF1-3A' SNP

Στον (πίνακα 9.3) παρουσιάζεται η κατανομή των γονοτύπων του SDF-1 και των αλληλίων στους 480 υγιείς μάρτυρες και στους 88 ασθενείς με γαστρικό καρκίνο. Οι παρατηρηθείσες συχνότητες των γονοτύπων ήταν σύμφωνες με την ισορροπία Hardy-Weinberg. Μόνο 6 ασθενείς και 46 άτομα από την ομάδα ελέγχου παρουσίασαν τον γονότυπο AA. Ως αποτέλεσμα, κατά την στατιστική ανάλυση αυτοί ομαδοποιήθηκαν μαζί με τα άτομα με γονότυπο GA (πίνακας 9.3). Οι συχνότητες των γονοτύπων GG, GA και AA ήταν 44.32, 48.86 και 6.82% στους ασθενείς και 42.71, 47.71 και 9.58% στα υγιή άτομα αντίστοιχα. Η συχνότητα του γονοτύπου GA + AA και η κατανομή του αλληλίου A δεν είχαν σημαντική διαφορά ανάμεσα στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο και στην ομάδα ελέγχου. (πίνακας 9.3)

Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά του όγκου, δεν παρατηρήθηκε καμιά στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων και αλληλίων του SDF-1 με τις παραμέτρους που διερευνήθηκαν (π.χ. στάδιο, διαφοροποίηση). Συνολικά σημειώθηκαν 17 θάνατοι κατά την περίοδο παρακολούθησης και κανένα από τα αλλήλια ή τους γονοτύπους δεν παρείχαν κάποιο πλεονέκτημα επιβίωσης στην ομάδα των ασθενών με γαστρικό καρκίνο.

Genotype/allele	Cases, n (% , n=88)	Controls, n (% , n=480)	P-value; OR (95% CI)
GG	39 (44.32)	205 (42.71)	Reference
GA	43 (48.86)	229 (47.71)	1; 0.98 (0.61-1.58)
AA	6 (6.82)	46 (9.58)	0.52; 0.68 (0.27-1.72)
GA+AA	49 (55.68)	275 (57.29)	0.81; 0.94 (0.59-1.48)
G	121 (68.75)	639 (66.56)	Reference
A	55 (31.25)	321 (33.44)	0.6; 0.9 (0.64-1.28)

OR, odds ratio; CI, confidence interval.

Πίνακας 9.3 : Κατανομή των γονοτύπων του SDF1-3'A και των αλληλίων στους υγιείς μάρτυρες και στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο

9.3 Γενετικοί πολυμορφισμοί στον εκκινητή του γονιδίου της Σουρβιβίνης (-31C>G)

Στον (πίνακα 9.4) παρουσιάζεται η κατανομή των γονοτύπων και των αλληλίων της σουρβιβίνης στους 88 ασθενείς και στην ομάδα ελέγχου. Η κατανομή των γονοτύπων -31G/C και των αλληλίων βρέθηκε να έχει σημαντική διαφορά ανάμεσα στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο και στην ομάδα ελέγχου. Η συχνότητα των γονοτύπων GG, GC και CC ήταν 20.45, 50 και 29.54% στους ασθενείς και 33.96, 45 and 21.04% στους υγιείς αντίστοιχα. Η συχνότητα του γονοτύπου GC+CC και η κατανομή του C αλληλίου βρέθηκαν να έχουν σημαντική διαφορά ανάμεσα στους καρκινοπαθείς και τους υγιείς. Ο γονότυπος GC+CC και το C αλληλίο ήταν υπερεκφρασμένα στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο (P=0.013 και P=0.0083, αντίστοιχα; πίνακας 9.4).

Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά του όγκου, δεν παρατηρήθηκε καμιά στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων και των αλληλίων της σουρβιβίνης με τις παραμέτρους που διερευνήθηκαν (π.χ. στάδιο, διαφοροποίηση). Συνολικά σημειώθηκαν 19 θάνατοι κατά την περίοδο παρακολούθησης και κανένα από τα αλληλίου ή τους γονοτύπους δεν παρείχαν κάποιο πλεονέκτημα επιβίωσης στην ομάδα των ασθενών με γαστρικό καρκίνο.

Genotype/allele	Cases, n (%; n=88)	Controls, n (%; n=480)	P-value; OR (95% CI)
GG	18 (20.45)	163 (33.96)	Reference
GC	44 (50)	216 (45)	0.05; 1.84 (1.03-3.31)
CC	26 (29.54)	101 (21.04)	0.013; 2.33 (1.22-4.47)
GC+CC	70 (79.54)	317 (66.04)	0.013; 2 (1.15-3.47)
G	80 (45.45)	542 (56.46)	Reference
C	96 (54.54)	418 (43.54)	0.0083; 1.55 (1.13-2.15)

OR, odds ratio; CI, confidence interval.

Πίνακας 9.4 : Κατανομή των γονοτύπων -31G/C της σουρβιβίνης και των αλληλίων στους υγιείς μάρτυρες και στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο

9.4 Γενετικοί πολυμορφισμοί S128R του γονιδίου της E-σελεκτίνης

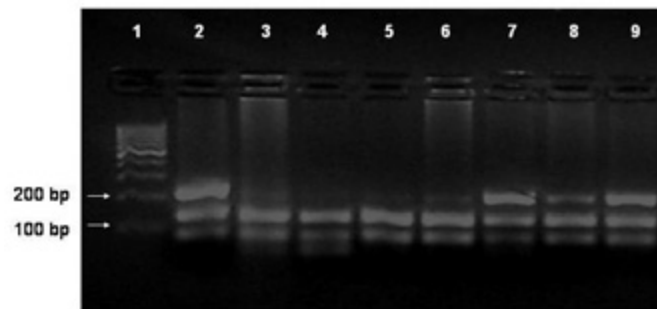
Στον (πίνακα 9.5 και εικόνα 9.1) παρουσιάζεται η κατανομή των γονοτύπων της E-σελεκτίνης και των αλληλίων στους υγιείς μάρτυρες και στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο. Οι παρατηρηθείσες συχνότητες των γονοτύπων ήταν σύμφωνες με την ισορροπία Hardy - Weinberg. Οι συχνότητες των γονοτύπων AA , CA και CC ήταν 46,59 % , 43,18 % , 1,023 % στους ασθενείς, και 63,75 % , 31,25 % , και 5% αντίστοιχα στα υγιή άτομα. Η συχνότητα των γονοτύπων και η κατανομή των αλληλίων ήταν διαφορετικές ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και στα άτομα με γαστρικό καρκίνο. Οι γονότυποι CA και CC αλλά και το C αλληλίο ήταν πολύ πιο συχνοί στα άτομα με γαστρικό καρκίνο ($P = 0,0027$ και $0,001$, αντίστοιχα, πίνακας 9.5)

Όσον αφορά τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά του όγκου, συνολικά δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση των πολυμορφισμών της E-σελεκτίνης και των παραμέτρων της έρευνας (π.χ. στάδιο , διαφοροποίηση).

Στον (πίνακα 9.6) παρουσιάζονται πληροφορίες σχετικές με την επιβίωση από το follow-up όλων των ασθενών. Η μέση διάρκεια του follow-up ήταν 36,27 μήνες (εύρος 1-60 μήνες). Συνολικά 17 ασθενείς υπέστησαν θάνατο σχετιζόμενο με τον καρκίνο κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης . Ο σχετικός στιγμιαίος κίνδυνος (hazard ratios) των γονοτύπων S128R της E-σελεκτίνης για τη συνολική επιβίωση παρουσιάζεται επίσης στον Πίνακα 9.6. Οι φορείς του C αλληλίου (AC + CC γονότυποι) σχετίζονται με κακή επιβίωση.(σχήμα 9.2)

	Cases, n (%) (n = 88)	Controls, n (%) (n = 480)	<i>P</i> value; odds ratio (OR) [95% confidence interval (CI)]
Genotype			
AA	41 (46.59)	308 (64.16)	0.0027; 0.49 (0.31 – 0.77)
AC	38 (43.18)	150 (31.25)	0.036; 1.67 (1.05 – 2.66)
CC	9 (10.23)	22 (4.56)	0.04; 2.37 (1.05 – 5.34)
AC + CC	47 (53.41)	172 (35.83)	0.0027; 2.05 (1.29 – 3.25)
Allele			
A	120 (68.18)	766 (79.79)	0.001; 0.54 (0.38 – 0.77)
C	56 (31.82)	194 (20.21)	0.001; 1.84 (1.29 – 2.63)

Πίνακας 9.5 : Κατανομή των γονοτύπων της E-σελεκτίνης και των αλληλίων στους υγιείς μάρτυρες και στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο

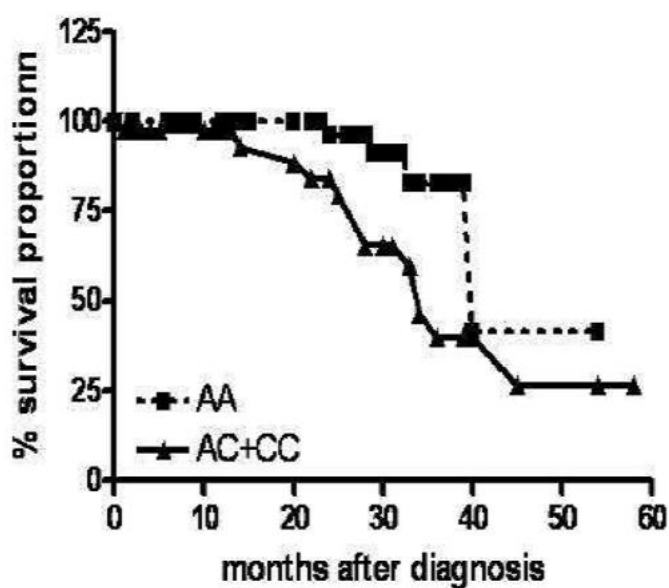


Εικόνα 9.1 : RFLP-PCR gel ηλεκτροφόρηση αλληλίων S128R E-σελεκτίνης. Οι στήλες 2, 7-9 αντιπροσωπεύουν ετερόζυγους ασθενείς και οι στήλες 3-6 αντιπροσωπεύουν ομόζυγους ασθενείς AA

Γονότυποι	Συνολική επιβίωση			P value
	Events (n)	5-Ετής επιβίωση (%) ^a	Hazard ratio (95% CI)	
AA (41)	3	90.64	1.00 (reference)	
AC + CC (47)	14	73.43	0.29 (0.11 – 0.81)	0.018

^a Τα ποσοστά επιβίωσης προέρχονται από ανάλυση Kaplan–Meier

Πίνακας 9.6 : Γονότυποι E-σελεκτίνης S128R σε συνδυασμό με τη συνολική επιβίωση ατόμων με γαστρικό καρκίνο



Σχήμα 9.2 : Καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier για τους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο στρωματοποιημένη με τους γονότυπους S128R της E-σελεκτίνης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

10.1 Γενετικοί πολυμορφισμοί CASP8 (-652 6N ins/del) και CASP9 (-1263 A>G)

Ελαττώματα στα μονοπάτια της απόπτωσης παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των καρκίνων. Η επιβίωση των καρκινικών κυττάρων μπορεί να διασφαλιστεί είτε από την απενεργοποίηση προαποπτωτικών σηματοδοτικών μονοπατιών είτε από την ενεργοποίηση αντιαποπτωτικών. Υπάρχουν δύο τρόποι που μπορούν να προκαλέσουν μειορύθμιση “down-regulation” της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων α) σωματικές και μη σωματικές μεταλλάξεις και απώλεια έκφρασης των προαποπτωτικών μορίων β) υπερέκφραση των ανασταλτικών μορίων της απόπτωσης. [176] [313]

Μεταλλάξεις των πρωτεασών της οικογένειας των κασπασών δεν είναι σπάνιες στους καρκίνους. [314]

Στην παρούσα μελέτη, μελετήθηκε η πιθανή συσχέτιση των γενετικών πολυμορφισμών CASP8 -652 6N ins/del και CASP9 -1263 A>G στην προδιάθεση για γαστρικό καρκίνο.

Διάφορες μελέτες δείχνουν ότι η CASP8 βρίσκεται μεταλλαγμένη σε διάφορους τύπους καρκίνων. Ο Soung και συν. [176] μελέτησαν γαστρικούς καρκίνους, μη μικροκυτταρικούς καρκίνους πνεύμονα, καρκίνους μαστού και οξείες λευχαιμίες για μεταλλάξεις του γονιδίου της CASP8, χρησιμοποιώντας ανάλυση πολυμορφισμού μονόκλωνης αλυσίδας (SSPC). Ενδιαφέρον παρουσίασε το γεγονός ότι οι μεταλλάξεις της CASP8 ανιχνεύτηκαν ως επί το πλείστον σε γαστρικούς καρκίνους και όχι σε άλλους.

Το αλληλίο CASP8 -652 6N del βρέθηκε ότι καταστρέφει ένα στοιχείο σύνδεσης της “stimulatory protein 1” αλλά και ότι μειώνει την έκφραση της CASP8, οδηγώντας έτσι σε μείωση της απόπτωσης στα T λεμφοκύτταρα μετά από διέγερση τους από καρκινικά κύτταρα ή φυτοαιμαγλουτινίνη σε μοντέλο ex vivo. [173]

Το συγκεκριμένο αλληλίο βρέθηκε να σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο καρκίνου πνεύμονα, οισοφάγου, στομάχου, μαστού και τραχήλου της μήτρας σε ένα τμήμα κινεζικού πληθυσμού. [173]

Ωστόσο αυτά τα ευρήματα δεν μπόρεσαν να επαληθευτούν σε επόμενες μεγαλύτερες μελέτες. [174] [175] [315]

Σε συμφωνία με τον Sun και συν. [173] παρατηρήσαμε ότι το αλληλίο CASP8 -652 6N del συσχετίζεται με σημαντικά μειωμένο κίνδυνο γαστρικού καρκίνου. Επιπρόσθετα, η μελέτη μας παρείχε στοιχεία για την σχέση μεταξύ του πολυμορφισμού CASP8 -652 6N ins/del και την συνολική επιβίωση. Η καμπύλη Kaplan- Meier έδειξε πιθανή συσχέτιση της παρουσίας του “del” αλληλίου με αυξημένη επιβίωση.

Η CASP9 ενεργοποιείται κατά την ενδογενή οδό μέσω του αποπτωσώματος. [316] Η απελευθέρωση αποπτωτικών μορίων, που προκαλούνται από τις αλλαγές στα μιτοχόνδρια, έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των κασπασών, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τις περισσότερες βιοχημικές και μορφολογικές αλλαγές που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της απόπτωσης. Ο παράγοντας APAF-1 παρουσία του κυτοχρώματος c και dATP, ολιγομερίζεται για να σχηματίσει ένα πολύ μεγάλο αποπτωσωματικό σύμπλοκο. Το αποπτώσωμα δεσμεύει και ενεργοποιεί την CASP9 σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο που με την σειρά του δεσμεύει και ενεργοποιεί τις εκτελεστικές κασπάσες. Η επίδραση του πολυμορφισμού CASP9 -1263 A>G στην ανάπτυξη και εξέλιξη του γαστρικού, του κολοορθικού και άλλων καρκίνων δεν έχει προσδιοριστεί ακόμα. Και αυτό διότι η λειτουργική της σημασία, στην ενεργοποίηση της CASP9 από το αποπτώσωμα και στην αποτελεσματικότητα της ενεργοποίησης των εκτελεστικών κασπασών από την CASP9, είναι ασαφής. Κάποιος ίσως μπορεί να υποθέσει ότι ο πολυμορφισμός CASP9 -1263 A>G μπορεί να επηρεάσει είτε την ικανότητα σύνδεσης και την σταθερότητα του αποπτωσώματος είτε την διαδικασία ενεργοποίησης των κασπασών μέσω της CASP9 προκειμένου να επηρεάσει θετικά ή αρνητικά το ενδογενές μονοπάτι της απόπτωσης.

Λαμβάνοντας υπόψιν το βιολογικό ρόλο της CASP9, τέτοιες λειτουργικές αλλαγές είτε προς την πλευρά της ενεργοποίησης είτε της καταστολής, μπορεί να εκφραστούν μέσω της προώθησης ή της παρεμπόδισης της ανάπτυξης των όγκων.

Δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με την συσχέτιση των πολυμορφισμών του γονιδίου της CASP9 και τον κίνδυνο γαστρικού καρκίνου. Ωστόσο, μελέτες σε διάφορους

καρκίνους έδειξαν ότι ο πολυμορφισμός CASP9 -1263 A>G σχετίζεται με σημαντικά μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου πνεύμονα και ουροδόχου κύστεως. [175] [317]

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι οι φορείς του -1263 G αλληλίου είχαν μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου. Επιπλέον τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης παρείχαν στοιχεία όσον αφορά τη σχέση του πολυμορφισμού CASP9 -1263 A>G με την συνολική επιβίωση. Η καμπύλη Kaplan- Meier έδειξε πιθανή συσχέτιση της παρουσίας του “G” αλληλίου με αυξημένη επιβίωση.

Συμπερασματικά οι πολυμορφισμοί CASP8 -652 6N ins/del και CASP9 -1263 A>G σχετίζονται σημαντικά με την προδιάθεση για γαστρικό καρκίνο. Επειδή όμως οι γενετικοί πολυμορφισμοί παρουσιάζουν συχνά εθνοτικές διαφορές, χρειάζονται περαιτέρω μελέτες σε διαφορετικούς πληθυσμούς για να διευκρινίσουν τη σχέση του γαστρικού καρκίνου με τους πολυμορφισμούς των γονιδίων των κασπασών.

10.2 Γενετικοί πολυμορφισμοί SDF1-3A' SNP

Είναι κοινώς αποδεκτό ότι η κλινική συμπεριφορά των όγκων εξαρτάται από την αλληλεπίδραση των καρκινικών κυττάρων με τον ξενιστή. Η ποικιλόμορφη κυτταρική προέλευση του SDF-1 και η έκφραση του σε διάφορα όργανα, δικαιολογούν την μελέτη αυτής της χημειοκίνης ως βασικού ρυθμιστικού παράγοντα του μικροπεριβάλλοντος των οργάνων σε κακοήθειες και μη κακοήθειες παθολογίες. Η πλειοψηφία των μοριακών μελετών έχει επικεντρωθεί στην ανάλυση μεταλλάξεων γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο ή γονιδίων που σχετίζονται με τον μεταβολισμό καρκινογόνων ουσιών. Εντούτοις, έχουν γίνει λίγες μελέτες γενετικών πολυμορφισμών γονιδίων που σχετίζονται με μόρια του στρώματος των όγκων ή του μικροπεριβάλλοντος του όγκου (πχ. SDF-1) και με την απόπτωση, με σκοπό την διερεύνηση του πιθανού προγνωστικού τους ρόλου.

Στην συγκεκριμένη μελέτη διερευνήθηκε ο συσχετισμός των κοινών γενετικών παραλλαγών του SDF-1 με τον γαστρικό καρκίνο και την επιθετικότητα των φαινοτύπων, σε μια ομάδα ασθενών Ελληνικής καταγωγής. Αν και οι πολυμορφισμοί του γονιδίου του SDF-1 έχουν μελετηθεί σε διάφορους ασθενείς και καρκίνους,

υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα σχετικά με την σημασία των πολυμορφισμών στον γαστρικό καρκίνο.

Προηγούμενες μελέτες απέδειξαν τις ογκογόνες ιδιότητες του SDF-1 (CXCL12)/CXCR4 μονοπατιού. [318] [263] [270] [271] Επιπλέον ο άξονας SDF-1/CXCR4 αποτελεί καλό υποψήφιο για χημικές παρεμβάσεις, με στόχο να προκύψουν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις για διάφορους όγκους [319]. Τα επίπεδα έκφρασης SDF-1/CXCR4 έχουν μελετηθεί στο γαστρικό καρκίνο, ωστόσο η τρέχουσα βιβλιογραφία είναι περιορισμένη όσον αφορά την αξιολόγηση του κύριου γενετικού πολυμορφισμού αυτού του μορίου (π.χ. SDF1-3'A) σε αυτού του τύπου την κακοήθεια [320] [321] [322] [323]

Για τον λόγο αυτό, η διαλεύκανση του πιθανού ρόλου αυτού του πολυμορφισμού στην ανάπτυξη του καρκίνου και πιθανώς στην εξέλιξη του, έχει μεγάλο ενδιαφέρον. Τα παρόντα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο πολυμορφισμός SDF1-3'A ίσως να μην αποτελεί καλό υποψήφιο γενετικής παραλλαγής για την επιλογή των ατόμων υψηλότερου κινδύνου ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου. Επίσης δεν παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση του πολυμορφισμού με δυσμενείς κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους. Ωστόσο στη μελέτη μας, ο αριθμός των ασθενών με καρκίνο στομάχου ήταν περιορισμένος. Από την άλλη παρόλο που προηγούμενες μελέτες πάνω στον καρκίνο του παχέος εντέρου αποτύχαν να εντοπίσουν σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον SDF1-3'A πολυμορφισμό και στον κίνδυνο ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου [270] [271], ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός έχει συνδεθεί στο παρελθόν με προδιάθεση για καρκίνο μαστού, πνεύμονα, προστάτη και παγκρέατος. [188] [263] [265] [267] [268] [269]

Εκτεταμένες μελέτες στον καρκίνο μαστού έχουν αποδείξει ότι ο συνδυασμός χαμηλών επιπέδων SDF-1 στο πλάσμα και του πολυμορφισμού SDF1-3'A μπορεί να προσδιορίσει μια ομάδα ασθενών με προδιάθεση για φτωχότερη επιβίωση [263]. Παραλλαγές σε μοριακούς μηχανισμούς που σχετίζονται με την παθογένεση διαφόρων τύπων καρκίνου μπορεί να ευθύνονται γι' αυτές τις διαφορετικές συσχετίσεις. Πιο συγκεκριμένα, ανάλογα με την προέλευση του ιστού, η επίδραση του πολυμορφισμού SDF-1 μπορεί να συνεισφέρει διαφορετικά στην εξέλιξη του όγκου, την αγγειογένεση, τη μετάσταση και την μετανάστευση των λευκοκυττάρων.

Σύμφωνα με τ' αποτελέσματα της μελέτης μας, κανένας συσχετισμός δεν εντοπίστηκε μεταξύ των τυπικών δεικτών εξέλιξης του όγκου, συμπεριλαμβανομένων του ιστολογικού βαθμού, μέγεθος όγκου, μεταστατικό προφίλ. Παρόλα αυτά, η απουσία συσχέτισης του SDF1-3'A με τον κίνδυνο γαστρικού καρκίνου αλλά και με τον φαινότυπο, δεν αποκλείει το ενδεχόμενο ότι ο SDF-1 μπορεί να επηρεάσει την εξέλιξη του καρκίνου και την επιθετικότητα του. Έχει αναφερθεί στο παρελθόν ότι η έκφραση του SDF-1 και CXCR4 σε εντερικού τύπου καρκίνο συσχετίζεται με σημαντική αύξηση του μεγέθους του όγκου, του βάθους διήθησης και των λεμφαδενικών και ηπατικών μεταστάσεων. [320] [321]

Αυξημένα επίπεδα ορού SDF-1 βρέθηκαν σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο στομάχου, υποδεικνύοντας ότι η πρωτεΐνη SDF-1 που εκφράζουν τα γαστρικά καρκινικά κύτταρα μπορεί να σχετίζεται με την επιθετικότητα του όγκου. [322] Σε μια προηγούμενη μελέτη, ο CXCR4 ήταν εκφρασμένος στο 50% των περιπτώσεων καρκίνου του στομάχου και ήταν επίσης εκφρασμένος σε μεγαλύτερο βαθμό στο γαστρικό καρκίνο απ' ότι στον κανονικό γαστρικό ιστό. Επιπλέον βρέθηκε αυξημένο SDF-1 mRNA σε λεμφαδένες με μεταστάσεις σε σχέση με τους φυσιολογικούς λεμφαδένες. Η τελευταία παρατήρηση επιβεβαίωσε ότι τα καρκινικά κύτταρα μεταναστεύουν προς την κατεύθυνση της διαφοράς συγκέντρωσης του SDF-1 σε συγκεκριμένα όργανα στόχους. [323]

Ο μηχανισμός πίσω από την συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού SDF-1 και την κλινική συμπεριφορά των όγκων παραμένει υπό διερεύνηση. Μεταβολές στα λειτουργικά επίπεδα του γονιδίου SDF-1, λαμβάνοντας υπόψη το βιολογικό ρόλο αυτού του μορίου στο μικροπεριβάλλον του όγκου στις μεταστάσεις, μπορεί να χρησιμεύσει ως μια λογική εξήγηση. Ο τρόπος δράσης των χημειοκινών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το τοπικό περιβάλλον και ο εκκρινόμενος SDF-1 δημιουργεί μια διαφορά συγκέντρωσης για τα κύτταρα που φέρουν CXCR4. [188] [323]

10.3 Γενετικοί πολυμορφισμοί στον εκκινητή του γονιδίου της Σουρβιβίνης (-31C>G)

Η σουρβιβίνη είναι ένας αντιαποπτωτικός παράγοντας που εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Πολλές κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η σουρβιβίνη είναι αρκετά υπερεκφρασμένη στην πλειονότητα των κοινών τύπων καρκίνου, υποδεικνύοντας ότι η απορρύθμιση της μεταγραφής της είναι ένας σημαντικός μηχανισμός που σχετίζεται με την ανώμαλη έκφραση της σουρβιβίνης στον καρκίνο. [225] [227] [228] [229] [230] [231] [232]

Στην παρούσα μελέτη διερευνήσαμε εάν ο πολυμορφισμός -31G/C στο γονίδιο της σουρβιβίνης συμβάλει στην ανάπτυξη του καρκίνου του στομάχου. Σε προηγούμενες μελέτες έχει βρεθεί αυξημένη συχνότητα του αλληλίου -31C σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα, των νεφρών, του ουροποιητικού, του ρινοφάρυγγα, του θυροειδούς, του ενδομητρίου, του οισοφάγου και του παχέος εντέρου. Συμφωνώντας με αυτά τα ευρήματα, τα αποτελέσματα της μελέτης μας έδειξαν ότι υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στο γονότυπο -31C/C και το -31C αλληλίο και σε ένα σημαντικά αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη γαστρικού καρκίνου. [234] [324] [325] [326] [327] [328] [329] [330] [331] [332] [333]

Ωστόσο ο Yang και συν. παρατήρησαν ότι οι γονότυποι GG και GC σχετιζόταν με κίνδυνο ανάπτυξης περιφερικού γαστρικού καρκίνου ή καλώς διαφοροποιημένου καρκίνου. Δεν αποδείχτηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον συνολικό κίνδυνο ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου και στους συγκεκριμένους γονοτύπους. Ωστόσο οι συγγραφείς ήταν σε συμφωνία με την υπόθεση ότι στον κινεζικό πληθυσμό ο συγκεκριμένος γονότυπος εμπλέκεται στην καρκινογένεση του περιφερικού γαστρικού καρκίνου και στην διαφοροποίηση του [334]. Αντίθετα, σύμφωνα πάντα με τις παρούσες διαπιστώσεις, ο Cheng και συν. απέδειξαν ότι η συχνότητα του αλληλίου της σουρβιβίνης -31C και ο γονότυπος C/C βρέθηκαν σημαντικά υψηλότεροι στα άτομα με καρκίνο στομάχου απ' ότι σε υγιείς εθελοντές, συμπεραίνοντας ότι ο γονότυπος -31C του εκκινητή της σουρβιβίνης είναι παράγοντας κινδύνου για γαστρικό καρκίνο. [335] Ο Li και συν. διαπίστωσαν ότι οι φορείς του G αλληλίου του εκκινητή του γονιδίου της σουρβιβίνης ίσως έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν γαστρικό καρκίνο διαχύτου τύπου, εντοπισμένο στο άντρο, σε πιο νεαρή ηλικία. Οι

φορείς του C αλληλίου με υψηλή D17S250 μικροδορυφορική αστάθεια (γονίδιο TP53) έδειξαν αυξημένο συνολικό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του στομάχου, δείχνοντας ότι το μεταλλαγμένο γονίδιο TP53 δεν είναι σε θέση ν' αναστείλει την έκφραση της σουρβιβίνης, προωθώντας την γαστρική καρκινογένεση. [336] Ωστόσο αυτός ο πολυμορφισμός δεν έχει ακόμα αναγνωριστεί ως δείκτης κινδύνου για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, του ηπατοκυτταρικού και του παγκρέατος. [177] [233] [337]

Μολονότι η υπερέκφραση της σουρβιβίνης σε διάφορους καρκίνους του ανθρώπου είναι μια καλά αποδεκτή υπόθεση, δεν έχει γίνει κατανοητός ο ρόλος των πολυμορφισμών της. Μια λογική εξήγηση γι' αυτή τη διαφορά κινδύνου για τα διάφορα είδη καρκίνων από τον πολυμορφισμό της σουρβιβίνης που εξετάστηκε, μπορεί ν' αποδοθεί σε διαφορές των μονοπατιών καρκινογένεσης στα διάφορα είδη καρκίνων. Διάφορες μελέτες αποκάλυψαν ότι ο πολυμορφισμός -31G/C του εκκινητή της σουρβιβίνης ίσως ρυθμίζει την έκφραση της. [234] [325] [327] Λόγω της θέσης του στο σημείο CDE/CHR πρόσδεσης του καταστολέα, αυτός ο πολυμορφισμός μπορεί να επηρεάζει την σύνδεση του καταστολέα σε αυτή την περιοχή και την έκφραση της σουρβιβίνης. Παλαιότερα μια δοκιμασία *in vitro* απέδειξε ότι το -31G αλληλίο εμφάνισε σημαντικά χαμηλότερη μεταγραφική δραστηριότητα από το -31C αλληλίο, δείχνοντας ότι ο -31G/C πολυμορφισμός επηρεάζει την έκφραση της σουρβιβίνης και συμβάλλει στην γενετική προδιάθεση του καρκίνου του πνεύμονα. [234]. Επιπλέον, η παρουσία του πολυμορφισμού -31G/C έχει εντοπιστεί σε υψηλότερες συχνότητες σε καρκινικές κυτταρικές σειρές και σχετίζεται με αυξημένη έκφραση της σουρβιβίνης σε επίπεδο mRNA και πρωτεΐνης. [325] Από τη στιγμή που η σουρβιβίνη λειτουργεί ως αναστολέας της απόπτωσης, η οποία είναι σημαντική διαδικασία για την καταστροφή των μεταλλαγμένων κυττάρων, είναι πιθανόν τα άτομα που μεταφέρουν τον υψηλότερης παραγωγής γονότυπο του -31G/C πολυμορφισμού της σουρβιβίνης να έχουν μειωμένη ικανότητα αποβολής των κυττάρων με βλάβες στο DNA, το οποίο μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη κακοηθειών. Ως εκ τούτου, είναι βιολογικά εύλογο ότι ο πολυμορφισμός -31G/C του εκκινητή της σουρβιβίνης προσδίδει προδιάθεση για διάφορα είδη καρκίνων.

Συμπερασματικά η παρούσα μελέτη συμπεριέλαβε έναν ομοιογενή Ελληνικό πληθυσμό, στον οποίο αναγνωρίστηκε ότι ο πολυμορφισμός -31G/C του εκκινητή της σουρβιβίνης προσδίδει αυξημένη προδιάθεση για καρκίνο στομάχου. Αυτό είναι ένα επιπλέον παράδειγμα του ρόλου των μορίων που σχετίζονται με την απόπτωση στις

ανθρώπινες κακοήθειες. Ο γαστρικός καρκίνος λόγω της κακής πρόγνωσης και της παγκόσμιας επιδημιολογικής του κατανομής, παραμένει στην πρώτη γραμμή των επιδημιολογικών και κλινικών ερευνών. Λόγω του μικρού μεγέθους του δείγματος της παρούσας μελέτης, είναι απαραίτητη η επέκταση της και η συμπερίληψη ενός μεγαλύτερου αριθμού ασθενών. Καλά σχεδιασμένες και προσεκτικά εκτελεσμένες πολυκεντρικές μελέτες, με συμμετοχή μεγάλου αριθμού ατόμων θα επιφέρει πιο πειστικά και γενικεύσιμα συμπεράσματα. Δεδομένου ότι οι γενετικοί πολυμορφισμοί παρουσιάζουν συχνά διαφορές μεταξύ εθνοτήτων, πρόσθετες μελέτες πρέπει να συμπεριλάβουν πληθυσμούς με διαφορετικά υπόβαθρα για να διευκρινίσουν περαιτέρω τη σχέση των εξεταζόμενων πολυμορφισμών με τον καρκίνο του στομάχου.

10.4 Γενετικοί πολυμορφισμοί S128R του γονιδίου της E-σελεκτίνης

Ο γενετικός πολυμορφισμός S128R του γονιδίου της E-σελεκτίνης έχει αποδειχτεί ότι έχει λειτουργικές επιπτώσεις, σε όρους συγκολλητικότητας, στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Σε μια πρόσφατη μελέτη, ενδοθηλιακά κύτταρα με τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό της E-σελεκτίνης παρουσίασαν αυξημένη ικανότητα προσκόλλησης και κυτταρική σηματοδότηση της σειράς T84 των καρκινικών κυττάρων παχέος εντέρου. [338] Σημαντικά στοιχεία για τον ρόλο του πολυμορφισμού S128R σε κακοήθειες προέρχονται από προηγούμενες μελέτες που δείχνουν ότι σχετίζεται με προδιάθεση για καρκίνο παγκρέατος [311] και ανάπτυξης μεταστάσεων στον καρκίνο του παχέος εντέρου. [310] [338]

Στην παρούσα μελέτη, προσπαθήσαμε να καθορίσουμε αν υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού S128R του γονιδίου της E-σελεκτίνης με την προδιάθεση για γαστρικό καρκίνο. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι οι γονότυποι AC και CC σχετίζονται σημαντικά με τον κίνδυνο ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου, αποτελέσματα που συμφωνούν απόλυτα και με την πρόσφατη μελέτη των Xia και συν. στον κινέζικο πληθυσμό, όπου φάνηκε ότι το αλληλίο C, αλλά και το FCGR2A rs1801274, σχετιζόταν σημαντικά με κίνδυνο για γαστρικό καρκίνο. [312] Οι ασθενείς με το C αλληλίο διατρέχουν τον κίνδυνο τα καρκινικά κύτταρα τους να έχουν υψηλότερη συγκολλητικότητα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν μεταστάσεις. Στη μελέτη μας, μόνο το 25% των ασθενών ανέπτυξαν απομακρυσμένες

μεταστάσεις. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση μεταξύ του πολυμορφισμού που μελετήθηκε και το μεταστατικό δυναμικό των περιπτώσεων με γαστρικό καρκίνο. Η E-σελεκτίνη είναι ένα μόριο προσκόλλησης που εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα που εμπλέκονται στην πρόσφυση του *Helicobacter pylori* αλλά και στις γαστρικές αλλοιώσεις που προκαλεί. [339]

Παρόλο που ο ρόλος της E-σελεκτίνης στον γαστρικό καρκίνο παραμένει αμφιλεγόμενος, πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι αυξημένες συγκεντρώσεις E-σελεκτίνης αντιστοιχούν με κακή πρόγνωση του καρκίνου του στομάχου, του παχέος εντέρου καθώς και του θηλώδους καρκίνου του θυρεοειδούς, και θα μπορούσε να αντικατοπτρίζει το θεραπευτικό αποτέλεσμα του γαστρικού καρκίνου. [340] [341] [342] [343] [344] Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι οι φορείς του C αλληλίου είχαν κακή πρόγνωση, αν και ο αριθμός των ασθενών στην μελέτη ήταν μικρός. Από την μελέτη μας, δεν υπάρχει σαφής ένδειξη για το αν αυτό το αλληλόμορφο σχετίζεται με τα επίπεδα έκφρασης της E-σελεκτίνης. Τρεις είναι οι πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους η E-σελεκτίνη θα μπορούσε να σχετίζεται με την πρόοδο και την διηθητικότητα του γαστρικού καρκίνου: α) οι συνδέτες sialyl-Lewis A ή sialyl-Lewis X που επιτρέπουν κρίσιμες αλληλεπιδράσεις κατά την εμφάνιση απομακρυσμένων μεταστάσεων β) το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) που έχει ταυτοποιηθεί ως συνδέτης της E-σελεκτίνης και γ) η επαγωγή της αγγειογένεσης μέσω του μονοπατιού της Src-PI3K. [312] Η επίδραση των πολυμορφισμών του γονιδίου της E-σελεκτίνης στην καρκινογένεση του στομάχου μπορεί να συνεισφέρει διαφορετικά μεταξύ των διάφορων κακοηθειών ρυθμίζοντας την εξέλιξη του όγκου, την αγγειογένεση, τις μεταστάσεις και την μετανάστευση των λευκοκυττάρων. Εκτός από τις αλλαγές στις ρυθμιστικές οδούς εξαιτίας της ενεργοποίησης των ογκογονιδίων ή της απώλειας των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, η εξέλιξη του καρκίνου και τα κλινικά αποτελέσματα μπορεί να διαμορφώνονται σε μεγάλο βαθμό από την λειτουργική αλλοίωση βασικών πρωτεϊνών οφειλόμενη σε γενετικούς πολυμορφισμούς [345]. Το ζήτημα όσον αφορά την επίδραση των γονοτύπων και των αλληλίων της E-σελεκτίνης στην ανάπτυξη και εξέλιξη του γαστρικού καρκίνου παραμένει ανοικτό, όσο η λειτουργική σημασία του υπολειπόμενου αλληλόμορφου στην έκφραση της μεταγραφής και της πρωτεΐνης της E-σελεκτίνης παραμένει σε μεγάλο βαθμό ασαφής. Όπως οι περισσότεροι καρκίνοι του ανθρώπου, έτσι και ο γαστρικός καρκίνος πρέπει να θεωρηθεί ως μια ασθένεια με

πολυγονιδιακό υπόβαθρο, όπου ογκογονίδια, ογκοκατασταλτικά γονίδια και σηματοδοτικά μονοπάτια διαδραματίζουν συγκεκριμένο ρόλο.

Συμπερασματικά , στην παρούσα μελέτη, αναφέρουμε ότι το C αλληλίο της S128R E-σελεκτίνης μπορεί να παρέχει αυξημένη προδιάθεση ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου και κακή πρόγνωση. Περαιτέρω διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών και μεγαλύτερες ομάδες ασθενών μπορούν να βοηθήσουν στην καλύτερη κατανόηση της ανάπτυξης του γαστρικού καρκίνου και να βοηθήσουν στον εντοπισμό νέων προγνωστικών παραμέτρων .

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή – Σκοπός

Οι κασπάσες -8 και -9, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της απόπτωσης. Ο προερχόμενος από το στρώμα παράγοντας 1 (SDF-1), μέλος της οικογένειας χημειοκινών CXCL, είναι σημαντικός για την ανάπτυξη, την αγγειογένεση και την μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Η σουρβιβίνη αποτελεί μέλος της οικογένειας των αναστολέων της απόπτωσης (IAPs). Η E-σελεκτίνη είναι ένα μόριο προσκόλλησης που εκφράζεται στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα και παίζει σημαντικό ρόλο στον μηχανισμό της μετάστασης, ρυθμίζοντας την προσκόλληση των καρκινικών κυττάρων, που έχουν εισέλθει την κυκλοφορία, στα αιμοφόρα αγγεία. Σκοπός του ερευνητικού πρωτοκόλλου ήταν η συσχέτιση των πιο κοινών γενετικών πολυμορφισμών των παραπάνω παραγόντων με την προδιάθεση για γαστρικό καρκίνο.

Μέθοδος

Στην παρούσα μελέτη «ασθενών - μαρτύρων» συμμετείχαν 88 ασθενείς με γαστρικό καρκίνο και 480 υγιή άτομα ως ομάδα ελέγχου. Μελετήθηκαν οι γενετικοί πολυμορφισμοί CASP8 -652 6N ins/del, CASP9 -1263 A>G, SDF1-3'A, -31G/C του εκκινητή της σουρβιβίνης και E-σελεκτίνη S128R και η συσχέτιση τους με τον γαστρικό καρκίνο. Η γονοτυπική ανάλυση των πολυμορφισμών διεξήχθη χρησιμοποιώντας την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης και ανάλυσης πολυμορφισμού μήκους θραυσμάτων εκ περιορισμού (PCR-RFLP).

Αποτελέσματα

Ο πολυμορφισμός CASP8 -652 6N ins/del και ο γονότυπος CASP9 -1263 GG συσχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο γαστρικού καρκίνου. Οι πολυμορφισμοί CASP8 del/del και CASP9 -1263 GG συσχετίζονται με αυξημένη συνολική επιβίωση σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο.

Οι συχνότητες των SDF1-3'A γονοτύπων GG,GA και AA ήταν 44.32, 48.86 και 6.82% στους ασθενείς και 42.71, 47.71 και 9.58% στα υγιή άτομα αντίστοιχα. Η συχνότητα του γονοτύπου GA + AA και η κατανομή του αλληλίου A δεν είχαν σημαντική διαφορά ανάμεσα στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο και στην ομάδα ελέγχου.

Η συχνότητα των γονοτύπων της σουρβιβίνης GG, GC και CC ήταν 20.45, 50 και 29.54% στους ασθενείς και 33.96, 45 and 21.04% στους υγιείς αντίστοιχα. Ο γονότυπος GC+CC και το C αλληλίο ήταν υπερεκφρασμένα στους ασθενείς με γαστρικό καρκίνο (P=0.013 και P=0.0083, αντίστοιχα).

Οι γονότυποι της E-σελεκτίνης S128R CA και CC αλλά και το C αλληλίο ήταν πολύ πιο συχνό στα άτομα με γαστρικό καρκίνο.

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική στατιστικά συσχέτιση κανενός από τους παραπάνω πολυμορφισμούς με τα παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά των όγκων.

Συμπεράσματα

Οι πολυμορφισμοί CASP8 -652 6N ins/del και CASP9 -1263 A>G παρατηρήθηκε ότι παίζουν προστατευτικό ρόλο στην προδιάθεση για γαστρικό καρκίνο. Ο πολυμορφισμός -31G/C του εκκινητή της σουρβιβίνης προσδίδει αυξημένη προδιάθεση για καρκίνο στομάχου, ενώ ο πολυμορφισμός SDF1-3'A ίσως να μην αποτελεί καλό υποψήφιο γενετικής παραλλαγής για την επιλογή των ατόμων υψηλότερου κινδύνου ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου. Τέλος το C αλληλίο της E-σελεκτίνης S128R μπορεί να παρέχει αυξημένη προδιάθεση ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου και κακή πρόγνωση.

ABSTRACT

Background

Caspase-8 and caspase-9 (CASP9) are protease enzymes that play essential roles in regulating apoptosis. Stromal-cell derived factor-1 (SDF-1), a CXC chemokine, is important for growth, angiogenesis and metastasis of tumor cells. Survivin is a member of the inhibitor of apoptosis family of proteins. E-selectin is an adhesion molecule expressed on activated endothelial cells and plays an important role in the mechanism of cancer metastasis, regulating the adhesion of circulating cancer cells to the blood vessels. Our aim was to investigate the association of these molecules most common gene polymorphisms with gastric cancer (GC) susceptibility.

Methods

We performed a case-control study of 88 gastric cancer cases and 480 controls to analyze the association between CASP8 -652 6N ins/del, CASP9 -1263 A>G, SDF1-3'A, survivin promoter -31G/C and E-selectin S128R gene polymorphisms and GC susceptibility. The genotyping analysis was done by Polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism method.

Results

CASP8 -652 6N ins/del polymorphism and CASP9 -1263 GG genotype were observed to be significantly associated with a lower risk of gastric cancer. Both CASP8 del/del and CASP9 -1263 GG genotypes were associated with increased overall survival in gastric cancer patients.

The SDF1-3'A genotype frequencies for GG, GA and AA were 44.32, 48.86 and 6.92% in patients and 42.71, 47.71 and 9.58% in healthy subjects, respectively. GA+AA genotype frequency and A allele distribution were not identified as significantly different between gastric cancer cases and controls. The survivin frequencies for GG, GC and CC were 20.45, 50 and 29.54% in patients and 33.96, 45 and 21.04% in control group, respectively. The C carriers (GC+CC genotype) and the C allele were over-represented among the gastric cancer cases (P=0.013 and P=0.0083, respectively).

The E-selectin S128R C allele, CA and CC genotypes were over-represented among the GC cases. However, carrying the C allele was associated with poor survival.

No statistically significant association was observed between all the above polymorphisms and tumor characteristics.

Conclusions

The CASP8 -652 6N ins/del and the CASP9 -1263 A>G polymorphisms were observed to play a protective role in GC predisposition. The survivin promoter -31G/C polymorphism may confer an increased susceptibility to gastric cancer, while the SDF1-3'A polymorphism may not be a candidate genetic variant to select individuals at higher risk of developing gastric cancer. The E-selectin S128R C allele may confer an increased susceptibility to gastric cancer development and correlate with a poor prognosis.

Βιβλιογραφία

- [1] *Netter, Frank H. (2014), Netter's Atlas of Human Anatomy 6th ed, Saunders Elsevier, Philadelphia.*
- [2] *Σάββα, Α.(1996), Επίτομη ανατομική του ανθρώπου και Άτλας, Τόμος Πρώτος, Ε.Ο. Αδελφών Κυριακίδη Α.Ε., Θεσσαλονίκη – Αθήνα, pp.302-310.*
- [3] *Balboni GC, Bastianini A, Brizzi E, Comparini et al. Fegato. In Balboni GC, Bastianini A, Brizzi E, Comparini et al. Anatomia Umana 2nd edition. Vol 2. Milano: Edi-Ermes, 1994, p.92-116.*
- [4] *Ajani JA, In H, Sano T, et al. Stomach.. In: AJCC Cancer Staging Manual, 8th, Amin MB.. (Ed), AJCC, Chicago 2017. p.205-207.*
- [5] *Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 2011; 61:69.*
- [6] *Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. CA Cancer J Clin 2014; 64:9.*
- [7] *Parkin DM. Epidemiology of cancer: global patterns and trends. Toxicol Lett 1998; 102-103:227.*
- [8] *Pisani P, Parkin DM, Ferlay J. Estimates of the worldwide mortality from eighteen major cancers in 1985. Implications for prevention and projections of future burden. Int J Cancer 1993; 55:891.*
- [9] *Haenszel W. Variation in incidence of and mortality from stomach cancer, with particular reference to the United States. J Natl Cancer Inst 1958; 21:213.*
- [10] *Muñoz N, Asvall J. Time trends of intestinal and diffuse types of gastric cancer in Norway. Int J Cancer 1971; 8:144.*
- [11] *Hirayama T. Epidemiology of cancer of the stomach with special reference to its recent decrease in Japan. Cancer Res 1975; 35:3460.*
- [12] *Cancer incidence in five continents. Waterhouse J, Muir C, Correa P, et al (Eds), Vol III, IARC Scientific Publication no.15, International Agency for Research on Cancer, Lyon 1976.*
- [13] *Zhu AL, Sonnenberg A. Is gastric cancer again rising? J Clin Gastroenterol 2012; 46:804.*
- [14] *Fitzsimmons D, Osmond C, George S, Johnson CD. Trends in stomach and pancreatic cancer incidence and mortality in England and Wales, 1951-2000. Br J Surg 2007; 94:1162.*
- [15] *Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2006. CA Cancer J Clin 2006; 56:106.*

- [16] *Schlansky B, Sonnenberg A. Epidemiology of noncardia gastric adenocarcinoma in the United States. Am J Gastroenterol 2011; 106:1978.*
- [17] *Anderson WF, Camargo MC, Fraumeni JF Jr, et al. Age-specific trends in incidence of noncardia gastric cancer in US adults. JAMA 2010; 303:1723.*
- [18] *Coggon D, Barker DJ, Cole RB, Nelson M. Stomach cancer and food storage. J Natl Cancer Inst 1989; 81:1178.*
- [19] *La Vecchia C, Negri E, D'Avanzo B, Franceschi S. Electric refrigerator use and gastric cancer risk. Br J Cancer 1990; 62:136.*
- [20] *Correa P. Gastric cancer: two epidemics? Dig Dis Sci 2011; 56:1585.*
- [21] *Stewart B, Keihues P. World Cancer Report, International Agency for Research on Cancer Press, Lyon France 2003. p.194.*
- [22] *Wynder El, Kmet J, Dungal N, Segi M. An Epidemiological Investigation Of Gastric Cancer. Cancer 1963; 16:1461..*
- [23] *Correa P, Haenszel W, Tannenbaum S. Epidemiology of gastric carcinoma: review and future prospects. Natl Cancer Inst Monogr 1982; 62:129.*
- [24] *Wong BC, Ching CK, Lam SK, et al. Differential north to south gastric cancer-duodenal ulcer gradient in China. China Ulcer Study Group. J Gastroenterol Hepatol 1998; 13:1050.*
- [25] *Correa P, Cuello C, Duque E. Carcinoma and intestinal metaplasia of the stomach in Colombian migrants. J Natl Cancer Inst 1970; 44:297.*
- [26] *Cuello C, Correa P, Haenszel W, et al. Gastric cancer in Colombia. I. Cancer risk and suspect environmental agents. J Natl Cancer Inst 1976; 57:1015.*
- [27] *Kakizoe IW. Figures on cancer in Japan-1993. Foundation for Promotion of Cancer Research, Tokyo 1993.*
- [28] *OPCS (Office of Population, Census and Surveys). 1994 Cancer statistics: Registrations in England and Wales (Series MB No.21). HMSO, London 1978.*
- [29] *Wong BC, Ching CK, Lam SK, et al. Differential north to south gastric cancer-duodenal ulcer gradient in China. China Ulcer Study Group. J Gastroenterol Hepatol 1998; 13:1050., 24.*
- [30] *Chen JS, Campbell TC, Li JY, et al. Life-style and Mortality in China. A Study of the Characteristics of 65 Chinese Counties, Oxford University Press, Oxford 1990.*
- [31] *Haenszel W, Kurihara M. Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. J Natl Cancer Inst 1968; 40:43.*
- [32] *Haenszel W, Kurihara M, Segi M, Lee RK. Stomach cancer among Japanese in Hawaii. J Natl Cancer Inst 1972; 49:969.*

- [33] *Ferlay J et al., Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012, Int J Cancer. 2015 Mar 1;136(5):E359-86.*
- [34] *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.*
- [35] *Ikeda Y, Mori M, Kamakura T, et al. Improvements in diagnosis have changed the incidence of histological types in advanced gastric cancer. Br J Cancer 1995; 72:424.*
- [36] *Dupont JB Jr, Lee JR, Burton GR, Cohn I Jr. Adenocarcinoma of the stomach: review of 1,497 cases. Cancer 1978; 41:941.*
- [37] *Kampschöer GH, Nakajima T, van de Velde CJ. Changing patterns in gastric adenocarcinoma. Br J Surg 1989; 76:914.*
- [38] *Powell J, McConkey CC. Increasing incidence of adenocarcinoma of the gastric cardia and adjacent sites. Br J Cancer 1990; 62:440.*
- [39] *Kalish RJ, Clancy PE, Orringer MB, Appelman HD. Clinical, epidemiologic, and morphologic comparison between adenocarcinomas arising in Barrett's esophageal mucosa and in the gastric cardia. Gastroenterology 1984; 86:461.*
- [40] *Bertuccio P, Chatenoud L, Levi F, et al. Recent patterns in gastric cancer: a global overview. Int J Cancer 2009; 125:666.*
- [41] *Wanebo HJ, Kennedy BJ, Chmiel J, et al. Cancer of the stomach. A patient care study by the American College of Surgeons. Ann Surg 1993; 218:583.*
- [42] *Kahrilas PJ, Kishk SM, Helm JF, et al. Comparison of pseudoachalasia and achalasia. Am J Med 1987; 82:439.*
- [43] *Morgenstern L. The Virchow-Troisier node: a historical note. Am J Surg 1979; 138:703.*
- [44] *Pieslor PC, Hefter LG. Umbilical metastasis from prostatic carcinoma--Sister Joseph nodule. Urology 1986; 27:558.*
- [45] *Gilliland R, Gill PJ. Incidence and prognosis of Krukenberg tumour in Northern Ireland. Br J Surg 1992; 79:1364.*
- [46] *Winne BURCHARD BE. Blumer's shelf tumor with primary carcinoma of the lung. A case report. J Int Coll Surg 1965; 44:477.*
- [47] *Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. N Engl J Med 1995; 333:32.*
- [48] *Dantzig PI. Sign of Leser-Trélat. Arch Dermatol 1973; 108:700.*
- [49] *Brown J, Winkelmann RK. Acanthosis nigricans: a study of 90 cases. Medicine (Baltimore) 1968; 47:33.*

- [50] Antman KH, Skarin AT, Mayer RJ, et al. Microangiopathic hemolytic anemia and cancer: a review. *Medicine (Baltimore)* 1979; 58:377.
- [51] Wakashin M, Wakashin Y, Iesato K, et al. Association of gastric cancer and nephrotic syndrome. An immunologic study in three patients. *Gastroenterology* 1980; 78:749.
- [52] Sack GH Jr, Levin J, Bell WR. Trousseau's syndrome and other manifestations of chronic disseminated coagulopathy in patients with neoplasms: clinical, pathophysiologic, and therapeutic features. *Medicine (Baltimore)* 1977; 56:1.
- [53] Poveda F, González-García J, Picazo ML, et al. Systemic polyarteritis nodosa as the initial manifestation of a gastric adenocarcinoma. *J Intern Med* 1994; 236:679.
- [54] Wanebo HJ, Kennedy BJ, Chmiel J, et al. Cancer of the stomach. A patient care study by the American College of Surgeons. *Ann Surg* 1993; 218:583.
- [55] Marqués-Lespier JM, González-Pons M, Cruz-Correa M, Current Perspectives on Gastric Cancer., *Gastroenterol Clin North Am.* 2016 Sep;45(3):413-28.
- [56] Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. *Gastric Cancer* 2011;14(2):101–12.
- [57] Borrmann R. Geshwulste des Magens und Duodenums. In: Henke F, Lubrasch O, editors. *Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie*. Berlin: Springer-Verlag; 1926. p. 865.
- [58] Ming SC. Gastric carcinoma. A pathobiological classification. *Cancer* 1977;39:2475–85.
- [59] Carneiro F. Classification of gastric carcinomas. *Curr Diagn Pathol* 1997;4:51–9.
- [60] 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;33:606–12.
- [61] 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.
- [62] Lauwers GY, Carneiro F, Graham DY, et al. Gastric carcinoma. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, et al, editors. *WHO classification of tumours of the digestive system*. 4th edition. Lyon (France): IARC Press; 2010. p. 48–58.
- [63] Tay ST, Leong SH, Yu K, et al. A combined comparative genomic hybridization and expression microarray analysis of gastric cancer reveals novel molecular subtypes. *Cancer Res* 2003;63:3309–16.
- [64] Tan IB, Ivanova T, Lim KH, et al. Intrinsic subtypes of gastric cancer, based on gene expression pattern, predict survival and respond differently to chemotherapy. *Gastroenterology* 2011;141:476–85.

- [65] Lee HS, Cho SB, Lee HE, et al. Protein expression profiling and molecular classification of gastric cancer by the tissue array method. *Clin Cancer Res* 2007;13: 4154–63.
- [66] Piazuelo MB, Correa P. Gastric cancer: overview. *Colomb Med (Cali)* 2013; 44(3):192–201.
- [67] Henson DE, Dittus C, Younes M, et al. Differential trends in the intestinal and diffuse types of gastric carcinoma in the United States, 1973-2000: increase in the signet ring cell type. *Arch Pathol Lab Med* 2004;128:765–70.
- [68] Barber M, Murrell A, Ito Y, et al. Mechanisms and sequelae of E-cadherin silencing in hereditary diffuse gastric cancer. *J Pathol* 2008;216(3):295–306.
- [69] Correa P. Gastric cancer: overview. *Gastroenterol Clin North Am* 2013;42(2): 211-7.
- [70] Yakirevich E, Resnick MB., Pathology of gastric cancer and its precursor lesions., *Gastroenterol Clin North Am.* 2013 Jun;42(2):261-84.
- [71] Hamilton S., Aaltonen L. ,WHO Classification of Tumours - Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System, IARC Press, Lyon, France 2000, p38.
- [72] Lauwers GY, Carneiro F, Graham DY, et al. Gastric carcinoma. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, et al, editors. WHO classification of tumours of the digestive system. 4th edition. Lyon (France): IARC Press; 2010. p. 48–58.
- [73] Ajani JA, Bentrem DJ, Besh S, et al. Gastric cancer, versión 2.2013: featured updates to the NCCN Guidelines. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN.* May 1 2013; 11(5): 531-546.
- [74] American Joint Committee on Cancer Staging Manual, 7th, Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al (Eds), Springer, New York 2010. p.117.
- [75] Russel, M. (2012), 'Primary Gastric Malignancies' in MD Anderson, *Surgical Oncology Handbook 5th Edition*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 271-323.
- [76] McFadden, D. (2017), 'The Management of Gastric Adenocarcinoma' in Cameron, J. (ed), *Current Surgical Therapy 12th ed*, Elsevier, Philadelphia, pp. 94-98.
- [77] Λιακάκος, Θ. (2005), 'Παθήσεις στομάχου – Δωδεκαδακτύλου' in Κωστάκης, Α. (ed), *Σύγχρονη Χειρουργική Διαγνωστική και Θεραπευτική*, Ιε Πασχαλίδης, Αθίνα, pp. 1008 – 1022.
- [78] Horie Y, Miura K, Matsui K, et al. Marked elevation of plasma carcinoembryonic antigen and stomach carcinoma. *Cancer* 1996; 77:1991.
- [79] Kodama I, Koufujii K, Kawabata S, et al. The clinical efficacy of CA 72-4 as serum marker for gastric cancer in comparison with CA19-9 and CEA. *Int Surg* 1995; 80:45.
- [80] Carpelan-Holmström M, Louhimo J, Stenman UH, et al. CEA, CA 19-9 and CA 72-4 improve the diagnostic accuracy in gastrointestinal cancers. *Anticancer Res* 2002; 22:2311.

- [81] *Lai IR, Lee WJ, Huang MT, Lin HH. Comparison of serum CA72-4, CEA, TPA, CA19-9 and CA125 levels in gastric cancer patients and correlation with recurrence. Hepatogastroenterology 2002; 49:1157.*
- [82] *Mihmanli M, Dilege E, Demir U, et al. The use of tumor markers as predictors of prognosis in gastric cancer. Hepatogastroenterology 2004; 51:1544.*
- [83] *Kochi M, Fujii M, Kanamori N, et al. Evaluation of serum CEA and CA19-9 levels as prognostic factors in patients with gastric cancer. Gastric Cancer 2000; 3:177.*
- [84] *Takahashi Y, Takeuchi T, Sakamoto J, et al. The usefulness of CEA and/or CA19-9 in monitoring for recurrence in gastric cancer patients: a prospective clinical study. Gastric Cancer 2003; 6:142.*
- [85] *Duraker N, Celik AN. The prognostic significance of preoperative serum CA 19-9 in patients with resectable gastric carcinoma: comparison with CEA. J Surg Oncol 2001; 76:266.*
- [86] *Liu X, Cheng Y, Sheng W, et al. Clinicopathologic features and prognostic factors in alpha-fetoprotein-producing gastric cancers: analysis of 104 cases. J Surg Oncol 2010; 102:249.*
- [87] *Kono K, Amemiya H, Sekikawa T, et al. Clinicopathologic features of gastric cancers producing alpha-fetoprotein. Dig Surg 2002; 19:359.*
- [88] *Dooley CP, Larson AW, Stace NH, et al. Double-contrast barium meal and upper gastrointestinal endoscopy. A comparative study. Ann Intern Med 1984; 101:538.*
- [89] *Longo WE, Zucker KA, Zdon MJ, Modlin IM. Detection of early gastric cancer in an aggressive endoscopy unit. Am Surg 1989; 55:100.*
- [90] *Graham DY, Schwartz JT, Cain GD, Gyorkey F. Prospective evaluation of biopsy number in the diagnosis of esophageal and gastric carcinoma. Gastroenterology 1982; 82:228.*
- [91] *Karita M, Tada M. Endoscopic and histologic diagnosis of submucosal tumors of the gastrointestinal tract using combined strip biopsy and bite biopsy. Gastrointest Endosc 1994; 40:749.*
- [92] *Tsendsuren T, Jun SM, Mian XH. Usefulness of endoscopic ultrasonography in preoperative TNM staging of gastric cancer. World J Gastroenterol 2006; 12:43.*
- [93] *Matsumoto Y, Yanai H, Tokiyama H, et al. Endoscopic ultrasonography for diagnosis of submucosal invasion in early gastric cancer. J Gastroenterol 2000;35:326-331.*
- [94] *Cardoso R, Coburn N, Seevaratnam R, et al. A systematic review and meta-analysis of the utility of EUS for preoperative staging for gastric cancer. Gastric Cancer 2012;15 Suppl 1:S19-26.*

- [95] Spolverato G, Ejaz A, Kim Y, et al. Use of endoscopic ultrasound in the preoperative staging of gastric cancer: a multi-institutional study of the US gastric cancer collaborative. *J Am Coll Surg* 2015;220:48-56.
- [96] Kienle P, Buhl K, Kuntz C, et al. Prospective comparison of endoscopy, endosonography and computed tomography for staging of tumours of the oesophagus and gastric cardia. *Digestion* 2002; 66:230.
- [97] Mocellin S, Pasquali S. Diagnostic accuracy of endoscopic ultrasonography (EUS) for the preoperative locoregional staging of primary gastric cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; :CD009944.
- [98] Abdalla EK, Pisters PW. Staging and preoperative evaluation of upper gastrointestinal malignancies. *Semin Oncol* 2004; 31:513.
- [99] Minami M, Kawauchi N, Itai Y, et al. Gastric tumors: radiologic-pathologic correlation and accuracy of T staging with dynamic CT. *Radiology* 1992; 185:173.
- [100] Rossi M, Broglio L, Maccioni F, et al. Hydro-CT in patients with gastric cancer: preoperative radiologic staging. *Eur Radiol* 1997; 7:659.
- [101] Kim SJ, Kim HH, Kim YH, et al. Peritoneal metastasis: detection with 16- or 64-detector row CT in patients undergoing surgery for gastric cancer. *Radiology* 2009; 253:407.
- [102] Lowy AM, Mansfield PF, Leach SD, Ajani J. Laparoscopic staging for gastric cancer. *Surgery* 1996; 119:611.
- [103] Stahl A, Ott K, Weber WA, et al. FDG PET imaging of locally advanced gastric carcinomas: correlation with endoscopic and histopathological findings. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;30:288-295.
- [104] Yun M, Lim JS, Noh SH, et al. Lymph node staging of gastric cancer using (18)FFDG PET: a comparison study with CT. *J Nucl Med* 2005; 46:1582..
- [105] Stahl A, Ott K, Weber WA, et al. FDG PET imaging of locally advanced gastric carcinomas: correlation with endoscopic and histopathological findings. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; 30:288.
- [106] Rosenbaum SJ, Stergar H, Antoch G, et al. Staging and follow-up of gastrointestinal tumors with PET/CT. *Abdom Imaging* 2006;31:25-35.
- [107] Mukai K, Ishida Y, Okajima K, et al. Usefulness of preoperative FDG-PET for detection of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2006; 9:192.
- [108] Chen J, Cheong JH, Yun MJ, et al. Improvement in preoperative staging of gastric adenocarcinoma with positron emission tomography. *Cancer* 2005; 103:2383.
- [109] Sarela AI, Lefkowitz R, Brennan MF, Karpeh MS. Selection of patients with gastric adenocarcinoma for laparoscopic staging. *Am J Surg* 2006; 191:134.

- [110] Simon M, Mal F, Perniceni T, et al. Accuracy of staging laparoscopy in detecting peritoneal dissemination in patients with gastroesophageal adenocarcinoma. *Dis Esophagus* 2016; 29:236.
- [111] Bentrem D, Wilton A, Mazumdar M, et al. The value of peritoneal cytology as a preoperative predictor in patients with gastric carcinoma undergoing a curative resection. *Ann Surg Oncol* 2005;12:347-353.
- [112] Mezhir JJ, Shah MA, Jacks LM, et al. Positive peritoneal cytology in patients with gastric cancer: natural history and outcome of 291 patients. *Ann Surg Oncol* 2010;17:3173-3180.
- [113] De Andrade JP, Mezhir JJ. The critical role of peritoneal cytology in the staging of gastric cancer: an evidence-based review. *J Surg Oncol* 2014;110:291-297.
- [114] National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN Clinical practice guidelines in oncology. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp (Accessed on September 20, 2018).
- [115] Ito H, Clancy TE, Osteen RT, et al. Adenocarcinoma of the gastric cardia: what is the optimal surgical approach? *J Am Coll Surg* 2004;199:880-886.
- [116] Ono H, Kondo H, Gotoda T, et al. Endoscopic mucosal resection for treatment of early gastric cancer. *Gut* 2001;48:225-229.
- [117] Lim S, Muhs BE, Marcus SG, et al. Results following resection for stage IV gastric cancer; are better outcomes observed in selected patient subgroups? *J Surg Oncol* 2007;95:118-122.
- [118] Brar SS, Mahar AL, Helyer LK, et al. Processes of care in the multidisciplinary treatment of gastric cancer: results of a RAND/UCLA expert panel. *JAMA Surg* 2014;149:18-25.
- [119] Schwarz RE, Smith DD. Clinical impact of lymphadenectomy extent in resectable gastric cancer of advanced stage. *Ann Surg Oncol* 2007;14:317-328.
- [120] Biondi A, D'Ugo D, Cananzi FC, et al. Does a minimum number of 16 retrieved nodes affect survival in curatively resected gastric cancer? *Eur J Surg Oncol* 2015;41:779-786.
- [121] 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. *J Clin Oncol* 2005;23:7114- 7124.
- [122] Seevaratnam R, Bocicariu A, Cardoso R, et al. How many lymph nodes should be assessed in patients with gastric cancer? A systematic review. *Gastric Cancer* 2012;15 Suppl 1:S70-88.

- [123] Songun I, Putter H, Kranenborg EM, et al. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow-up results of the randomised nationwide Dutch D1D2 trial. *Lancet Oncol* 2010;11:439-449.
- [124] Degiuli M, Sasako M, Calgaro M, et al. Morbidity and mortality after D1 and D2 gastrectomy for cancer: interim analysis of the Italian Gastric Cancer Study Group (IGCSG) randomised surgical trial. *Eur J Surg Oncol* 2004;30:303-308.
- [125] Degiuli M, Sasako M, Ponti A, Calvo F. Survival results of a multicentre phase II study to evaluate D2 gastrectomy for gastric cancer. *Br J Cancer* 2004;90:1727-1732.
- [126] Egger, M. (2018), 'Primary Gastric Malignancies' in MD Anderson, *Surgical Oncology Handbook 6th Edition*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 379-431.
- [127] Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med* 2001; 345:725.
- [128] Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355:11..
- [129] Compare D, Rocco A, Nardone G. Risk factors in gastric cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2010;14:302–8.
- [130] Wang W, Spitz MR, Yang H, Lu C, Stewart DJ, Wu X. Genetic variants in cell cycle control pathway confer susceptibility to lung cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:5974-81.
- [131] Ye Y, Yang H, Grossman HB, Dinney C, Wu X, Gu J. Genetic variants in cell cycle control pathway confer susceptibility to bladder cancer. *Cancer* 2008;112:2467-74.
- [132] Jin S, DiPaola RS, Mathew R, White E. Metabolic catastrophe as a means to cancer cell death. *J Cell Sci* 2007;120:379–83.
- [133] Brown GD. Sensing necrosis with Mincle. *Nat Immunol* 2008;9:1099–100.
- [134] Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239–57.
- [135] Philchenkov AA, Stoika RS. *Apoptosis and Cancer: Moving from Theory to Clinics*. Ukrmedknyha, 2004.
- [136] Rao RV, Ellerby HM, Bredesen DE. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. *Cell Death Differ* 2004; 11: 372–80.
- [137] Lauber K, Blumenthal SG, Waibel M, Wesselborg S. Clearance of apoptotic cells: getting rid of the corpses. *Mol Cell* 2004;14:277–87.
- [138] Sadowski-Debbing K, Coy JF, Mier W, Hug H, Los M. Caspases — their role in apoptosis and other physiological processes as revealed by knock-out studies. *Arch Immunol Ther Exp* 2002; 50: 19–34.

- [139] Wolf BB, Green DR. Suicidal tendencies: apoptotic cell death by caspase family proteinases. *J Biol Chem* 1999; 274: 20049–52.
- [140] Philchenkov A, Zavelevich M, Krocak TJ, Los M. Caspases and cancer: mechanisms of inactivation and new treatment modalities. *Exp Oncol.* 2004 Jun;26(2):82-97.
- [141] Thornberry NA et al. A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 beta processing in monocytes. *Nature* 356:768, 1992.
- [142] Garcia-Calvo M et al. Purification and catalytic properties of human caspase family members. *Cell Death Differ.* 6:362, 1999.
- [143] Thornberry, NA et al. A combinatorial approach defines specificities of members of the caspase family and granzyme B. Functional relationships established for key mediators of apoptosis. *J. Biol. Chem.* 272:17907, 1997.
- [144] Cade C. (2015), "Caspases – Key Players in Apoptosis" in Bose K., *Proteases in Apoptosis: Pathways, Protocols and Translational Advances*, Springer, London.
- [145] Shalini S, Dorstyn L, Dawar S, Kumar S., Old, new and emerging functions of caspases, *Cell Death Differ.* 2015 Apr;22(4):526-39.
- [146] Johnson DE. Non caspase proteases in apoptosis. *Leukemia* 2000; 14: 1695–703.
- [147] Denecker G, Ovaere P, Vandenabeele P, Declercq W. (2008). Caspase-14 reveals its secrets. *J Cell Biol* 180: 451–458.
- [148] Li J, Yuan J. Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene* 2008;27:6194–206.
- [149] Frejlich E, Rudno-Rudzińska J, Janiszewski K, Salomon L, Kotulski K, Pelzer O, Grzebieniak Z, Tarnawa R, Kielan W., *Caspases and their role in gastric cancer.*, *Adv Clin Exp Med.* 2013 Jul-Aug;22(4):593-602.
- [150] French LE, Tschopp J. Protein-based therapeutic approaches targeting death receptors. *Cell Death Differ* 2003; 10: 117–23.
- [151] Nagata, S. Fas ligand-induced apoptosis. *Annu. Rev. Genet.* 33, 29–55 (1999).
- [152] Peter, M. E. & Krammer, P. H. The CD95(APO-1/Fas) DISC and beyond. *Cell Death Differ.* 10, 26–35 (2003).
- [153] Luo, X., Budihardjo, I., Zou, H., Slaughter, C. & Wang, X. Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell* 94, 481–490 (1998).
- [154] Li, H., Zhu, H., Xu, C. & Yuan, J. Cleavage of BID by caspase-8 mediates the mitochondrial damage in the fas pathway of apoptosis. *Cell* 94, 491–501 (1998).
- [155] Riedl SJ1, Shi Y., *Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis.*, *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004 Nov;5(11):897-907.

- [156] Hanahan, D. & Weinberg, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57–70 (2000).
- [157] Wang, X. The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev.* 15, 2922–2933 (2001).
- [158] Li, P. et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 91, 479–489 (1997).
- [159] Saleh, A., Srinivasula, S. M., Acharya, S., Fishel, R. & Alnemri, E. S. Cytochrome c and dATP-mediated oligomerization of Apaf-1 is a prerequisite for procaspase-9 activation. *J. Biol. Chem.* 274, 17941–17945 (1999).
- [160] Reed JC., *Bcl-2 family proteins.*, *Oncogene.* 1998 Dec 24;17(25):3225-36.
- [161] Metzstein, M. M., Stanfield, G. M., and Horvitz, H. R. (1998). Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: Past, present and future. *Trends Genet.* 14, 410–416.
- [162] Hsu YT, Wolter KG, Youle RJ, Cytosol-to-membrane redistribution of Bax and Bcl-X(L) during apoptosis., *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Apr 15;94(8):3668-72.
- [163] Czabotar PE, Lessene G, Strasser A, Adams JM., Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy, *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014 Jan;15(1):49-63.
- [164] Nomura, M., Shimizu, S., Ito, T., Narita, M., Matsuda, H., Tsujimoto, Y. Apoptotic cytosol facilitates Bax translocation to mitochondria that involves cytosolic factor regulated by Bcl-2. *Cancer Res.* 59, pp. 542–5548, 1999.
- [165] Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA Cancer J Clin* 2005;55:178–94.
- [166] Benchimol S. p53-dependent pathways of apoptosis. *Cell Death Differ* 8:1049–1051, 2001.
- [167] Maldonado V, Melendez-Zajgla J, Ortega A. Modulation of NF-kappa B, and Bcl-2 in apoptosis induced by cisplatin in HeLa cells. *Mut Res* 381: 67–75, 1997.
- [168] Micheau O, Thome M, Schneider P, Holler N, Tschopp J, Nicholson DW, Briand C, Grütter MG. The long form of FLIP is an activator of caspase-8 at the Fas death-inducing signaling complex. *J Biol Chem* 2002;277:45162–71.
- [169] Yan N, Shi Y. Mechanisms of apoptosis through structural biology. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005;21:35–56.
- [170] Kang TB, Ben-Moshe T, Varfolomeev EE, Pewzner-Jung Y, Yogev N, Jurewicz A, Waisman A, Brenner O, Haffner R, Gustafsson E, Ramakrishnan P, Lapidot T, Wallach D. Caspase-8 serves both apoptotic and nonapoptotic roles. *J Immunol* 2004;173:2976–84.
- [171] Ghavami S, Hashemi M, Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes., *J Med Genet.* 2009 Aug;46(8):497-510.

- [172] Cox A, Dunning AM, Garcia-Closas M, Balasubramanian S, Reed MW, Pooley KA, et al. A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk. *Nat Genet* 2007;39:352-8.
- [173] Sun T, Gao Y, Tan W, Ma S, Shi Y, Yao J, et al. A six-nucleotide insertion-deletion polymorphism in the CASP8 promoter is associated with susceptibility to multiple cancers. *Nat Genet* 2007;39:605-13.
- [174] Haiman CA, Garcia RR, Kolonel LN, Henderson BE, Wu AH, Le Marchand L. A promoter polymorphism in the CASP8 gene is not associated with cancer risk. *Nat Genet* 2008;40:259-60.
- [175] Gangwar R, Mandhani A, Mittal RD. Caspase 9 and caspase 8 gene polymorphisms and susceptibility to bladder cancer in north Indian population. *Ann Surg Oncol* 2009;16:2028-34.
- [176] Soung YH, Lee JW, Kim SY, Jang J, Park YG, Park WS, et al. CASPASE-8 gene is inactivated by somatic mutations in gastric carcinomas. *Cancer Res.* 2005;65:815-21.
- [177] Theodoropoulos GE, Michalopoulos NV, Panoussopoulos SG, Taka S, Gazouli M. Effects of Caspase-9 and Survivin Gene Polymorphisms in Pancreatic Cancer Risk and Tumor Characteristics. *Pancreas* 2010;39: 976-80.
- [178] Soung YH, Lee JW, Kim SY, Park WS, Nam SW, Lee JY, et al. Mutational analysis of proapoptotic caspase-9 gene in common human carcinomas. *APMIS* 2006;114:292-7..
- [179] Garg H, Suri P, Gupta JC, Talwar GP, Dubey S.,Survivin: a unique target for tumor therapy, *Cancer Cell Int.* 2016 Jun 23;16:49.
- [180] Kelly R, Lopez-Chavez A, Citrin D, Janik JE, Morris JC. Impacting tumorcell fate by targeting the inhibitor of apoptosis protein Survivin. *Mol Cancer.* 2011;10:35.
- [181] Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins—suppressors of apoptosis. *Genes Dev.* 1999;13(3):239–52.
- [182] Fukuda S, Pelus LM. Survivin, a cancer target with an emerging role in. *Mol Cancer Ther.* 2006;5:1087–98.
- [183] Schimmer AD. Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice. *Cancer Res.* 2004;64(20):7183–90.
- [184] Roy N, Deveraux QL, Takahashi R, Salvesen GS, Reed JC. The c-IAP-1 and c-IAP-2 proteins are direct inhibitors of specific caspases. *EMBO J.* 1997;16(23):6914–25.
- [185] Blankenship JW, Varfolomeev E, Goncharov T, Fedorova AV, Kirkpatrick DS, Izrael-Tomasevic A, Phu L, Arnott D, Aghajan M, Zobel K, et al. Ubiquitin binding modulates IAP antagonist-stimulated proteasomal degradation of c-IAP1 and c-IAP2(1). *Biochem J.* 2009.

- [186] Mobahat M, Narendran A, Riabowol K., *Survivin as a preferential target for cancer therapy*, *Int J Mol Sci*. 2014 Feb 13;15(2):2494-516.
- [187] Liston P, Fong WG and Korneluk RG: *The inhibitors of apoptosis: there is more to life than Bcl2*. *Oncogene* 22: 8568-8580, 2003.
- [188] Theodoropoulos GE, Panoussopoulos GS, Michalopoulos NV, et al: *Analysis of the stromal cell-derived factor 1-3'A gene polymorphism in pancreatic cancer*. *Mol Med Report* 3: 693-698, 2010.
- [189] Ambrosini G, Adida C and Alteri DC: *A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma*. *Nat Med* 3: 917-921, 1997.
- [190] Li F, Ambrosini G, Chu EY, et al: *Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint vby survivin*. *Nature* 396: 580-584, 1998.
- [191] Altieri DC: *The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy*. *Trends Mol Med* 7: 542-547, 2001.
- [192] Mahotka C, Liebmann J, Wenzel M, Suschek C, Schmitt M, Gabbert H. *Differential subcellular localization of functionally*. *Cell Death Differ*. 2002;9:1334-42.
- [193] Caldas H, Honsey LE, Altura RA. *Survivin 2alpha: a novel Survivin splice variant expressed in human malignancies*. *Mol Cancer*. 2005;4(1):11.
- [194] Sampath J, Pelus LM. *Alternative splice variants of Survivin as potential targets in cancer*. *Curr Drug Discov Technol*. 2007;4(3):174-91.
- [195] Necochea-Campion R, Chen CS, Mirshahidi S, Howard FD, Wall NR. *Clinico-pathologic relevance of Survivin splice variant expression in cancer*. *Cancer Lett*. 2013;339(2):167-74.
- [196] Suga K, Yamamoto T, Yamada Y, Miyatake S, Nakagawa T, Tanigawa N. *Correlation between transcriptional expression of Survivin isoforms and clinicopathological findings in human colorectal carcinomas*. *Oncol Rep*. 2005;13(5):891-7.
- [197] Li F. *Role of Survivin and its splice variants in tumorigenesis*. *Br J Cancer*. 2005;92:212-6.
- [198] Doucette T, Latha K, Yang Y, Fuller GN, Rao A, Rao G. *Survivin transcript variant 2 drives angiogenesis and malignant progression in proneural gliomas*. *Neuro Oncol*. 2014;16(9):1220-8.
- [199] Li F, Yang J, Ramnath N, Javle MM, Tan D. *Nuclear or cytoplasmic expression of Survivin: what is the significance?* *Int J Cancer*. 2005;114(4):509-12.
- [200] Khan S, Bennit HF, Wall NR. *The emerging role of exosomes in Survivin secretion*. *Histol Histopathol*. 2015;30(1):43-50.

- [201] Khan S, Jutzy JM, Valenzuela MM, Turay D, Aspe JR, Ashok A, Mirshahidi S, Mercola D, Lilly MB, Wall NR. Plasma-derived exosomal Survivin, a plausible biomarker for early detection of prostate cancer. *PLoS One*. 2012;7(10):e46737.
- [202] Uren AG, Wong L, Pakusch M, Fowler KJ, Burrows FJ, Vaux DL et al. Survivin and the inner centromere protein INCENP show similar cell-cycle localization and gene knockout phenotype. *Curr Biol* 2000; 10(21): 1319-1328.
- [203] Suzuki A, Hayashida M, Ito T, Kawano H, Nakano T, Miura M et al. Survivin initiates cell cycle entry by the competitive interaction with Cdk4/p16(INK4a) and Cdk2/cyclin E complex activation. *Oncogene* 2000a; 19: 3225–3234.
- [204] Suzuki A, Ito T, Kawano H, Hayashida M, Hayasaki Y, Tsutomi Y et al. Survivin initiates procaspase-3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas-mediated cell death. *Oncogene* 2000b; 19: 1346–1353.
- [205] Li F, Ackermann EJ, Bennett CF, Rothermel AL, Plescia J, Tognin S, Villa A, Marchisio PC, Altieri DC. Pleiotropic cell-division defects and apoptosis induced by interference with Survivin function. *Nat Cell Biol*. 1999;1(8):461–6.
- [206] Li F. Survivin study: What is the next wave? *J Cell Physiol* 2003; 197: 8-29.
- [207] Thompson CB: Apoptosis is the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 267: 1456-1462, 1995.
- [208] Raff M: Cell suicide for beginners. *Nature* 396: 119-122, 1998.
- [209] Tamm I, Wang Y, Sausville E, et al: IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases and anticancer drugs. *Cancer Res* 58: 5315-5320, 1998.
- [210] Asanuma K, Moriai R, Yajima T, et al: Survivin as a radioresistance factor in pancreatic cancer. *Jpn J Cancer Res* 91: 1204-1209, 2000.
- [211] Cheung CHA, Huang CC, Tsai FY, Lee JY, Cheng SM, Chang YC, Huang YC, Chen SH, Chang JY. Survivin—biology and potential as a therapeutic target in oncology. *OncoTargets Ther*. 2013;6:1453–62.
- [212] Eckelman BP, Salvesen GS, Scott FL. Human inhibitor of apoptosis proteins: why XIAP is the black sheep of the family. *EMBO Rep*. 2006;7(10):988–94.
- [213] Shin S, Sung BJ, Cho YS, et al. An anti-apoptotic protein human survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and -7. *Biochemistry* 2001; 40: 1117-1123.
- [214] Riedrl SJ, Renatus M, Schwarzenbacher R, Zhou Q, Sun C, Fesik SW et al. Structural basis for the inhibition of caspase-3 by XIAP. *Cell* 2001; 104: 791-800.
- [215] Sun C, Cai M, Meadows RP, et al. NMR structure and mutagenesis of the inhibitor-ofapoptosis protein XIAP. *Nature* 1999; 401: 818-821.

- [216] Johnson ME, Howerth EW. Survivin: a bifunctional inhibitor of apoptosis protein. *Vet Pathol.* 2004;41(6):599–607.
- [217] Shi Y. Survivin structure: crystal unclear. *Nat Struct Biol* 2000; 7: 620-623.
- [218] Marusawa H, Matsuzawa S, Welsh K, et al. HBXIP functions as a cofactor of Survivin in apoptosis suppression. *EMBO J.* 2003;22:2729–69.
- [219] Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, Connolly LM, Reid GE. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell* 2000; 102: 43-53.
- [220] Kawasaki H, Toyoda M, Shinohara H, et al: Expression of survivin correlates with apoptosis, proliferation and angiogenesis during human colorectal tumorigenesis. *Cancer* 91: 2026-2032, 2001.
- [221] Fernandez JG, Rodriguez DA, Valenzuela M, Calderon C, Urzua U, Munroe D, Rosas C, Lemus D, Diaz N, Wright MC, et al. Survivin expression promotes VEGF-induced tumor angiogenesis via PI3K/Akt enhanced beta-catenin/Tcf-Lef dependent transcription. *Mol Cance.*
- [222] Tran J, Master Z, Yu JL, Rak J, Dumont DJ, Kerbel RS. A role for Survivin in chemoresistance of endothelial cells mediated by VEGF. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99(7):4349–54.
- [223] Wang P, Zhen H, Zhang J, Zhang W, Zhang R, Cheng X, Guo G, Mao X, Wang J, Zhang X. Survivin promotes glioma angiogenesis through vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in vitro and in vivo. *Mol Carcinog.* 2012;51(7):586–95.
- [224] Mull AN, Klar A, Navara CS. Differential localization and high expression of SURVIVIN splice variants in human embryonic stem cells but not in differentiated cells implicate a role for SURVIVIN in pluripotency. *Stem cell Res.* 2014;12(2):539–49.
- [225] Altieri DC, Marchisio PC and Marchisio C: Survivin apoptosis: an interloper between cell death and cell proliferation in cancer. *Lab Invest* 79: 1327-1333, 1999.
- [226] Altieri DC: Survivin, cancer networks and pathway-directed drug discovery. *Nat Rev Cancer* 8: 61-70, 2008.
- [227] Chen WC, Liu Q, Fu JX and Kang SY: Expression of survivin and its significance in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 10: 2886-2889, 2004.
- [228] Falleni M, Pellegrini C, Marchetti A, et al: Survivin gene expression in early-stage non-small cell lung cancer. *J Pathol* 200: 620-626, 2003.
- [229] Fields AC, Cotsonis G, Sexton D, Santoianni R and Cohen C: Survivin expression in hepatocellular carcinoma: correlation with proliferation, prognostic parameters and outcome. *Mod Pathol* 17: 1378-1385, 2004.

- [230] Liu BB and Wang WH: *Survivin and pancreatic cancer*. *World J Clin Oncol* 2: 164-168, 2011.
- [231] Wang W, Luo H and Wang A: *Expression of survivin and correlation with PCNA in osteosarcoma*. *J Surg Oncol* 93: 578-584, 2006.
- [232] Xu Y, Fang F, Ludewig G, Jones G and Jones D: *A mutation found in the promoter region of the human survivin gene is correlated to overexpression of survivin in cancer cells*. *DNA Cell Biol* 23: 527-537, 2004.
- [233] Borbély AA, Murvai M, Szarka K, et al: *Survivin promoter polymorphism and cervical carcinogenesis*. *J Clin Pathol* 60: 303-306, 2007.
- [234] Jang JS, Kim KM, Kang KH, et al: *Polymorphisms in the survivin gene and the risk of lung cancer*. *Lung Cancer* 60: 31-39, 2008.
- [235] Viola A, Luster AD. *Chemokines and their receptors: drug targets in immunity and inflammation*. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2008;48: 171–197.
- [236] Smith H, Whittall C, Weksler B, Middleton J. *Chemokines stimulate bidirectional migration of human mesenchymal stem cells across bone marrow endothelial cells*. *Stem Cells Dev*. 2012;21(3):476–486.
- [237] Vindrieux, D., Escobar, P., & Lazennec, G. (2009). *Emerging roles of chemokines in prostate cancer*. *Endocrine-Related Cancer*, 16(3), 663–673.
- [238] Cojoc M, Peitzsch C, Trautmann F, Polishchuk L, Telegeev GD, Dubrovskaya A., *Emerging targets in cancer management: role of the CXCL12/CXCR4 axis*. *Onco Targets Ther*. 2013 Sep 30;6:1347-61.
- [239] Rot, A., & von Andrian, U. H. (2004). *Chemokines in innate and adaptive host defense: Basic chemokine grammar for immune cells*. *Annual Review of Immunology*, 22, 891–928.
- [240] Ransohoff, R. M. (2009). *Chemokines and chemokine receptors: Standing at the crossroads of immunobiology and neurobiology*. *Immunity*, 31(5), 711–721.
- [241] Balkwill F. *Cancer and the chemokine network*. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(7):540–550.
- [242] Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ. *Seven-transmembrane receptors*. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3(9):639–650.
- [243] Bieche, I., Chavey, C., Andrieu, C., Busson, M., Vacher, S., Le Corre, L., et al. (2007). *Cxc chemokines located in the 4q21 region are up-regulated in breast cancer*. *Endocrine-Related Cancer*, 14(4), 1039–1052.
- [244] New, D. C., & Wong, Y. H. (2003). *Cc chemokine receptor coupled signalling pathways*. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai)*, 35(9), 779–788.

- [245] Sun X, Cheng G, Hao M, Zheng J, Zhou X, Zhang J, Taichman RS, Pienta KJ, Wang J., *CXCL12 / CXCR4 / CXCR7 chemokine axis and cancer progression.*, *Cancer Metastasis Rev.* 2010 Dec;29(4):709-22.
- [246] Kruizinga, R. C., Bestebroer, J., Berghuis, P., de Haas, C. J., Links, T. P., de Vries, E. G., et al. (2009). *Role of chemokines and their receptors in cancer.* *Current Pharmaceutical Design*, 15 (29), 3396–3416.
- [247] Janowski M. *Functional diversity of SDF-1 splicing variants.* *Cell Adh Migr.* 2009;3(3):243–249.
- [248] Yu L, Cecil J, Peng SB, et al. *Identification and expression of novel isoforms of human stromal cell-derived factor 1.* *Gene.* 2006;374: 174–179.
- [249] Bouyssou JM, Ghobrial IM, Roccaro AM., *Targeting SDF-1 in multiple myeloma tumor microenvironment.*, *Cancer Lett.* 2016 Sep 28;380(1):315-8.
- [250] Teicher BA, Fricker SP., *CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer.*, *Clin Cancer Res.* 2010 Jun 1;16(11):2927-31.
- [251] Roland, J., Murphy, B. J., Ahr, B., Robert-Hebmann, V., Delauzun, V., Nye, K. E., et al. (2003). *Role of the intracellular domains of cxcr4 in sdf-1-mediated signaling.* *Blood*, 101(2), 399–406.
- [252] Muller, A., Homey, B., Soto, H., Ge, N., Catron, D., Buchanan, M. E., et al. (2001). *Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis.* *Nature*, 410(6824), 50–56.
- [253] Zagzag, D., Lukyanov, Y., Lan, L., Ali, M. A., Esencay, M., Mendez, O., et al. (2006). *Hypoxia-inducible factor 1 and vegf upregulate cxcr4 in glioblastoma: Implications for angiogenesis and glioma cell invasion.* *Laboratory Investigation*, 86(12), 1221–123.
- [254] Scala S., *Molecular Pathways: Targeting the CXCR4-CXCL12 Axis-Untapped Potential in the Tumor Microenvironment.* *Clin Cancer Res.* 2015 Oct 1;21(19):4278-85.
- [255] Décaillot FM, Kazmi MA, Lin Y, Ray-Saha S, Sakmar TP, Sachdev P. *CXCR7/CXCR4 heterodimer constitutively recruits beta-arrestin to enhance cell migration.* *J Biol Chem.* 2011;286(37):32188–32197.
- [256] Singh AK, Arya RK, Trivedi AK, et al. *Chemokine receptor trio: CXCR3, CXCR4 and CXCR7 crosstalk via CXCL11 and CXCL12.* *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013;24(1):41–49.
- [257] Watanabe MA, de Oliveira Cavassin GG, Orellana MD, Milanezi CM, Voltarelli JC, Kashima S and Covas DT: *SDF-1 gene polymorphisms and syncytia induction in Brazilian HIV-1 infected individuals.* *Microb Pathog* 35: 31-34, 2003.
- [258] Dean M, Carrington M and O'Brien SJ: *Balanced polymorphism selected by genetic versus infectious human disease.* *Annu Rev Genomics Hum Genet* 3: 263-292, 2002.

- [259] Voevodin A, Samilchuk E and Dashti S: Frequencies of SDF-1 chemokine, CCR5 and CCR2 chemokine receptor gene alleles conferring resistance to human immunodeficiency virus type 1 and AIDS in Kuwaitis. *J Med Virol* 58: 54-58, 1999.
- [260] Winkler C, Modi W, Smith MW, et al: Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. ALIVE Study, Hemophilia Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS).
- [261] Sei S, O'Neill DP, Stewart SK, et al: Increased level of stromal cell-derived factor-1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells from children with AIDS-related lymphoma. *Cancer Res* 61: 5028-5037, 2001.
- [262] Ide A, Kawasaki E, Abiru N et al: Stromal-cell derived factor-1 chemokine gene variant is associated with type 1 diabetes age at onset in Japanese population. *Hum Immunol* 64: 973-978, 2003.
- [263] Hassan S, Baccarelli A, Salvucci O and Basik M: Plasma stromal cell-derived factor-1: host derived marker predictive of distant metastasis in breast cancer. *Clin Cancer Res* 14: 446-454, 2008.
- [264] Khademi B, Razmkhah M, Erfani N, Gharagozloo M and Ghaderi A: SDF-1 and CCR5 genes polymorphism in patients with head and neck cancer. *Pathol Oncol Res* 14: 45-50, 2008.
- [265] Hirata H, Hinoda Y, Kikuno N, et al: CXCL12 G801A polymorphism is a risk factor for sporadic prostate cancer susceptibility. *Clin Cancer Res* 13: 5056-5062, 2007.
- [266] Nahon P, Sutton A, Rufat P, et al: Chemokine system polymorphisms, survival and hepatocellular carcinoma occurrence in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis. *World J Gastroenterol* 14: 713-719, 2008.
- [267] Razmkhah M, Doroudchi M, Ghayumi SM, Erfani N and Ghaderi A: Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) gene and susceptibility of Iranian patients with lung cancer. *Lung Cancer* 49: 311-315, 2005.
- [268] Coelho A, Calcada C, Catarino R, Pinto D, Fonseca G and Medeiros R: CXCL12-3' A polymorphism and lung cancer metastases protection: new perspectives in immunotherapy? *Cancer Immunol Immunother* 55: 639-643, 2006.
- [269] Razmkhah M, Talei AR, Doroudchi M, Khalili-Azad T and Ghaderi A: Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) alleles and susceptibility to breast carcinoma. *Cancer Lett* 225: 261-266, 2005.
- [270] Dimberg J, Hugander A, Lofgren S and Wagsater D: Polymorphism and circulating levels of the chemokine CXCL12 in colorectal cancer patients. *Int J Mol Med* 19: 11-15, 2007.
- [271] Hidalgo-Pascual M, Galan JJ, Chaves-Conde M, et al: Analysis of CXCL12 3'UTR G>A polymorphism in colorectal cancer. *Oncol Rep* 18: 1583-1587, 2007.

- [272] Jubeli E, Moine L, Vergnaud-Gauduchon J, Barratt G., E-selectin as a target for drug delivery and molecular imaging, *J Control Release*. 2012 Mar 10;158(2):194-206.
- [273] Bird MI, Foster MR, Priest R, Malhotra R. Selectins: physiological and pathophysiological roles. *Biochem Soc Trans*. 1997;25(4):1199-206.
- [274] Orr FW, Wang HH, Lafrenie RM, Scherbarth S, Nance DM. Interactions between cancer cells and the endothelium in metastasis. *J Pathol*. 2000;190(3):310-29.
- [275] C. Kneuer, C. Ehrhardt, M.W. Radomski, U. Bakowsky, Selectins — potential pharmacological targets? *Drug Discov. Today* 11 (21–22) (2006) 1034–1040.
- [276] R.P. McEver, Selectin–carbohydrate interactions during inflammation and metastasis, *Glycoconj. J.* 14 (5) (1997) 585–591.
- [277] M.B. Lawrence, T.A. Springer, Leukocytes roll on a selectin at physiologic flow rates: distinction from and prerequisite for adhesion through integrins, *Cell* 65 (5) (1991) 859–873.
- [278] McEver RP., Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall., *Cardiovasc Res*. 2015 Aug 1;107(3):331-9.
- [279] R.J. Ludwig, M.P. Schon, W.H. Boehncke, P-selectin: a common therapeutic target for cardiovascular disorders, inflammation and tumour metastasis, *Expert Opin. Ther. Targets* 11 (8) (2007) 1103–1117.
- [280] A. Stucki, A.S. Cordey, N. Monai, J.C. de Flaugergues, M. Schapira, O. Spertini, Cleaved L-selectin concentrations in meningeal leukaemia, *Lancet* 345 (8945) (1995) 286–289.
- [281] M.P. Bevilacqua, S. Stengelin, M.A. Gimbrone Jr., B. Seed, Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins, *Science* 243 (4895) (1989) 1160–1165.
- [282] M.P. Bevilacqua, Endothelial-leukocyte adhesion molecules, *Annu. Rev. Immunol.* 11 (1993) 767–804.
- [283] K.F. Montgomery, L. Osborn, C. Hession, R. Tizard, D. Goff, C. Vassallo, P.I. Tarr, K. Bomsztyk, R. Lobb, J.M. Harlan, et al., Activation of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 (ELAM-1) gene transcription, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88 (15) (19).
- [284] E.J. von Asmuth, E.F. Smeets, L.A. Ginsel, J.J. Onderwater, J.F. Leeuwenberg, W.A. Buurman, Evidence for endocytosis of E-selectin in human endothelial cells, *Eur. J. Immunol.* 22 (10) (1992) 2519–2526.
- [285] R.R. Lobb, G. Chi-Rosso, D.R. Leone, M.D. Rosa, S. Bixler, B.M. Newman, S. Luhowskyj, C.D. Benjamin, I.G. Douglas, S.E. Goelz, Expression and functional characterization of a soluble form of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1, *J. Immunol.* 147 (1) (1).

- [286] C.J. Cummings, Curtis N. Sessler, L.D. Beall, Bernard J. Fisher, Al M. Best, Alpha A. Fowler III, Soluble E-selectin levels in sepsis and critical illness. Correlation with infection and hemodynamic dysfunction, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156 (2) (1997).
- [287] S. Gout, C. Morin, F. Houle, J. Huot, Death receptor-3, a new E-selectin counterreceptor that confers migration and survival advantages to colon carcinoma cells by triggering p38 and ERK MAPK activation, *Cancer Res.* 66 (18) (2006) 9117–9124.
- [288] N. Kaila, B.E.t. Thomas, Design and synthesis of sialyl Lewis(x) mimics as E- and P-selectin inhibitors, *Med. Res. Rev.* 22 (6) (2002) 566–601.
- [289] W.S. Somers, J. Tang, G.D. Shaw, R.T. Camphausen, Insights into the molecular basis of leukocyte tethering and rolling revealed by structures of P- and E-selectin bound to SLe(X) and PSGL-1, *Cell* 103 (3) (2000) 467–479.
- [290] G. Walz, A. Aruffo, W. Kolanus, M. Bevilacqua, B. Seed, Recognition by ELAM-1 of the sialyl-Lex determinant on myeloid and tumor cells, *Science* 250 (4984) (1990) 1132–1135.
- [291] A.M. Olofsson, K.E. Arfors, L. Ramezani, B.A. Wolitzky, E.C. Butcher, U.H. von Andrian, E-selectin mediates leukocyte rolling in interleukin-1-treated rabbit mesentery venules, *Blood* 84 (8) (1994) 2749–2758.
- [292] C. Ehrhardt, C. Kneuer, U. Bakowsky, Selectins—an emerging target for drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 56 (4) (2004) 527–549.
- [293] D.H. Adams, S.G. Hubscher, N.C. Fisher, A. Williams, M. Robinson, Expression of E-selectin and E-selectin ligands in human liver inflammation, *Hepatology* 24 (3) (1996) 533–538.
- [294] I.P. Witz, The selectin–selectin ligand axis in tumor progression, *Cancer Metastasis Rev.* 27 (1) (2008) 19–30.
- [295] K. Kiriya, C. Ye, E-selectin expression in serum and tissue correlates with distant metastasis of colorectal cancer, *Nippon Rinsho* 53 (7) (1995) 1760–1764.
- [296] B. Mayer, H. Spatz, I. Funke, J.P. Johnson, F.W. Schildberg, De novo expression of the cell adhesion molecule E-selectin on gastric cancer endothelium, *Langenbecks Arch. Surg.* 383 (1) (1998) 81–86.
- [297] J. Renkonen, A. Makitie, T. Paavonen, R. Renkonen, Sialyl-Lewis(x/a)-decorated selectin ligands in head and neck tumours, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 125 (10) (1999) 569–576.
- [298] M. Nguyen, C.L. Corless, B.M. Kraling, C. Tran, T. Atha, J. Bischoff, S.H. Barsky, Vascular expression of E-selectin is increased in estrogen-receptor-negative breast cancer: a role for tumor-cell-secreted interleukin-1 alpha, *Am. J. Pathol.* 150 (4) (1997).

- [299] R. Kannagi, M. Izawa, T. Koike, K. Miyazaki, N. Kimura, *Carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer metastasis and angiogenesis*, *Cancer Sci.* 95 (5) (2004) 377–384.
- [300] M.H. Eichbaum, T.M. de Rossi, S. Kaul, G. Bastert, *Serum levels of soluble E-selectin are associated with the clinical course of metastatic disease in patients with liver metastases from breast cancer*, *Oncol. Res.* 14 (11–12) (2004) 603–610.
- [301] C.J. Dimitroff, M. Lechpammer, D. Long-Woodward, J.L. Kutok, *Rolling of human bone-metastatic prostate tumor cells on human bone marrow endothelium under shear flow is mediated by E-selectin*, *Cancer Res.* 64 (15) (2004) 5261–5269.
- [302] T. Nakashio, T. Narita, M. Sato, S. Akiyama, Y. Kasai, M. Fujiwara, K. Ito, H. Takagi, R. Kannagi, *The association of metastasis with the expression of adhesion molecules in cell lines derived from human gastric cancer*, *Anticancer. Res.* 17 (1A) (1997) 293.
- [303] Wenzel K, Hanke R, Speer A. *Polymorphism in the human E-selectin gene detected by PCR-SSCP*. *Hum Genet.* 1994;94(4):452-3.
- [304] Revelle BM, Scott D, Beck PJ. *Single amino acid residues in the E- and P-selectin epidermal growth factor domains can determine carbohydrate binding specificity*. *J Biol Chem.* 1996;271(27):16160-70.
- [305] Rao RM, Clarke JL, Ortlepp S, Robinson MK, Landis RC, Haskard DO. *The S128R polymorphism of E-selectin mediates neuraminidase-resistant tethering of myeloid cells under shear flow*. *Eur J Immunol.* 2002;32(1):251-60.
- [306] Rao RM, Haskard DO, Landis RC. *Enhanced recruitment of Th2 and CLA-negative lymphocytes by the S128R polymorphism of E-selectin*. *J Immunol.* 2002;169(10):5860-5.
- [307] Wang Z, Liu Y, Liu J, Liu K, Lou Y, Wen J, et al. *E-selectin gene polymorphisms are associated with essential hypertension: a case-control pilot study in a Chinese population*. *BMC Med Genet.* 2010;11:127.
- [308] Khazen D, Jendoubi-Ayed S, Aleya WB, Sfar I, Mouelhi L, Matri S, et al. *Polymorphism in ICAM-1, PECAM-1, E-selectin, and L-selectin genes in Tunisian patients with inflammatory bowel disease*. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009;21(2):167-75.
- [309] Wenzel K, Felix S, Kleber FX, Brachold R, Menke T, Schattke S, et al. *E-selectin polymorphism and atherosclerosis: an association study*. *Hum Mol Genet.* 1994;3(11):1935-7.
- [310] Hebbar M, Adenis A, Révillion F, Duhamel A, Romano O, Truant S, et al. *E-selectin gene S128R polymorphism is associated with poor prognosis in patients with stage II or III colorectal cancer*. *Eur J Cancer.* 2009;45(10):1871-6.
- [311] Panoussopoulos GS, Theodoropoulos G, Michalopoulos NV, Gazouli M, Flessas J, Taka S, et al. *Analysis of E-Selectin S128R gene polymorphism in pancreatic cancer*. *J Surg Oncol.* 2010;102(6):604-7.

- [312] Xia HZ, Du WD, Wu Q, Chen G, Zhou Y, Tang XF, et al. E-selectin rs5361 and FCGR2A rs1801274 variants were associated with increased risk of gastric cancer in a Chinese population. *Mol Carcinog*. 2011 Jul 20. doi: 10.1002/mc.20828.
- [313] Freedman ML, Penney KL, Stram DO, Le Marchand L, Hirschhorn JN, Kolonel LN, et al. Common variation in BRCA2 and breast cancer risk: a haplotype-based analysis in the Multiethnic Cohort. *Hum Mol Genet*. 2004;13:2431–41.
- [314] Devarajan E, Sahin AA, Chen JS, Krishnamurthy RR, Aggarwal N, Brun AM, et al. Down-regulation of caspase 3 in breast cancer: a possible mechanism for chemoresistance. *Oncogene*. 2002;21:8843–51.
- [315] Pittman AH, Broderick P, Sullivan K, Fielding S, Webb E, Penegar S, et al. CASP8 variants D302H and -652 6N ins/del do not influence the risk of colorectal cancer in the United Kingdom population. *Br J Cancer*. 2008;98:1434–6.
- [316] Twiddy D, Cain K. Caspase-9 cleavage, do you need it? *J Biochem*. 2007;405:e1–2.
- [317] Park JY, Park JM, Jang JS, Choi JE, Kim KM, Cha SI, et al. Caspase 9 promoter polymorphisms and risk of primary lung cancer. *Hum Mol Genet*. 2006;1:1963–71.
- [318] Vandercappellen J, Van Damme J and Struyf S: The role of CXC chemokines and their receptors in cancer. *Cancer Lett* 267: 226-244, 2008.
- [319] Juarez J, Bendall L and Bradstock K: Chemokines and their receptors as therapeutic targets: the role of the SDF-1/CXCR4 axis. *Curr Pharm Res* 10: 1245-1259, 2004.
- [320] Iwasa S, Yanagawa T, Fan J and Katoh R: Expression of CXCR4 and its ligand SDF-1 in intestinal-type gastric cancer is associated with lymph node and liver metastasis. *Anticancer Res* 29: 4751-4758, 2009.
- [321] Ishigami S, Natsugoe S, Okumura H, et al: Clinical implication of CXCL12 in gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 14: 3154-3158, 2007.
- [322] Woo IS, Hong SH, Byun JH, Kang JH, Jeon HM and Choi MG: Circulating stromal cell derived factor-1 is predictive of distant metastasis in gastric carcinoma. *Cancer Invest* 26: 256-261, 2008.
- [323] Zhao BC, Wang ZJ, Mao WZ, et al: CXCR4/SDF-1 axis is involved in lymph node metastasis of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 17: 2389-2396, 2011.
- [324] Wang YH, Chiou HY, Lin CT, et al: Association between survivin gene promoter -31 C/G polymorphism and urothelial carcinoma risk in Taiwanese population. *Urology* 73: 670-674, 2009.
- [325] Xu Y, Fang F, Ludewig G, et al: A mutation found in the promoter region of the human survivin gene is correlated to overexpression of survivin in cancer cells. *DNA Cell Biol* 23: 419-429, 2004.

- [326] Xang X, Xiong G, Chen X, et al: Polymorphisms of survivin promoter are associated with risk of esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 135: 1341-1349, 2009.
- [327] Gazouli M, Tzanakis N, Rallis G, et al: Survivin -31G/C promoter polymorphism and sporadic colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 24: 145-150, 2009.
- [328] Qin C, Cao Q, Li P, et al: Functional promoter -31G>C variant in survivin gene is associated with risk and progression of renal cell cancer in a Chinese population. *PLoS One* 7: e28829, 2012.
- [329] Yazdani N, Sayahpour FA, Haghpanah V, et al: Survivin gene polymorphism association with papillary thyroid carcinoma. *Pathol Res Pract* 208: 100-103, 2012.
- [330] Jaiswal PK, Goel A, Mandhani A and Mittal RD: Functional polymorphisms in promoter survivin gene and its association with susceptibility to bladder cancer in North Indian cohort. *Mol Biol Rep* 39: 5615-5621, 2012.
- [331] Zahedi P, Aminimoghaddam S, Sayahpour FA, et al: Association of survivin gene polymorphism with endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 22: 35-37, 2012.
- [332] Ma F, Zhang H, Zhai Y, et al: Functional polymorphism -31C/G in the promoter of BIRC5 gene and risk of nasopharyngeal carcinoma among chinese. *PLoS One* 6: e16748, 2011.
- [333] Upadhyay R, Khurana R, Kumar S, Ghoshal UC and Mittal B: Role of survivin gene promoter polymorphism (-31G>C) in susceptibility and survival of esophageal cancer in northern India. *Ann Surg Oncol* 18: 880-887, 2011.
- [334] Yang L, Zhu H, Zhou B, et al: The association between the survivin C-31G polymorphism and gastric cancer risk in a Chinese population. *Dig Dis Sci* 54: 1021-1028, 2008.
- [335] Cheng ZJ, Hu LH and Huang SJ: Correlation of -31G/C polymorphisms of survivin promoter to tumorigenesis of gastric carcinoma. *Ai Zheng* 27: 258-263, 2008 (In Chinese).
- [336] Li Y, Wang J, Jiang F, Lin W and Meng W: Association of polymorphisms in survivin gene with the risk of hepatocellular carcinoma in Chinese han population: a case control study. *BMC Med Genet* 13: 1, 2012.
- [337] Borges BN, Burbano RR and Harada ML: Survivin -31C/G polymorphism and gastric cancer risk in a Brazilian population. *Clin Exp Med* 11: 189-193, 2011.
- [338] Alessandro R, Seidita G, Flugy AM, et al. Role of S128R polymorphism of E-selectin in colon metastasis formation. *Int J Cancer* 2007; 121: 528-35.
- [339] Galustian C, Elviss N, Chart H, Owen R, Feizi T. Interactions of the gastrotropic bacterium *Helicobacter pylori* with the leukocyte-endothelium adhesion molecules, the selectins— A preliminary report. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003; 36: 127-34.

- [340] Bevilacqua MP, Nelson RM. *Selectins. J Clin Invest* 1993; 91:379–387.
- [341] Alexiou D, Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Zbar A, Sekara E, Michail P, et al. *Clinical significance of serum levels of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in gastric cancer patients. Am J Gastroenterol* 2003;.
- [342] Dymicka-Piekarska V, Kemono H. *Does colorectal cancer clinical advancement affect adhesion molecules (sP-selectin, sE-selectin and ICAM-1) concentration? Thromb Res* 2009;124:80–83.
- [343] Bal N, Kocer NE, Ertorer ME, Canpolat ET, Kayaselcuk F. *E-selectin, and P-selectin expressions in papillary thyroid carcinomas and their correlation with prognostic parameters. Pathol Res Pract* 2008;204:743–750.
- [344] Jiang CG, Li JB, Liu FR, Wu T, Yu M, Xu HM. *Andrographolide inhibits the adhesion of gastric cancer cells to endothelial cells by blocking E-selectin expression. Anticancer Res* 2007;27:2439–2447.
- [345] Houlston R, Tomlinson I. *Polymorphisms and colorectal tumor risk. Gastroenterology* 2001; 121: 282-301.