



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ
ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΧΟΥ**

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ Δ. ΛΙΑΝΟΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2015



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ
ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΧΟΥ**

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ Δ. ΛΙΑΝΟΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2015

Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (Νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)

Ημερομηνία αίτησης του κ. Λιανού Γεωργίου: 26-1-2009

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 653^α/3-2-2009

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Φατούρος Μιχαήλ, Καθηγητής Χειρουργικής και Μεταμοσχεύσεων του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Μέλη

Γαλάρης Δημήτριος, Καθηγητής Βιολογικής Χημείας του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Γκλαντζούνης Γεώργιος Ερευνητής Γ' του Πανεπιστημιακού Κολεγίου του Λονδίνου UCL

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 12-7-2011

«Προγνωστικοί παράγοντες και εξατομικευμένη χειρουργική στον καρκίνο του στομάχου»

Ανασυγκρότηση της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 711^α/3-5-2011

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Γκλαντζούνης Γεώργιος, Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής-Μεταμοσχεύσεων του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Μέλη

Ρούκος Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής με ιδιαίτερη έμφαση στην Ερευνητική- Πειραματική Χειρουργική του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Μπαλή Χριστίνα Λέκτορας Χειρουργικής του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 780^α/2-7-2015

Κάτσιος Χρήστος	Καθηγητής Χειρουργικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ρούκος Δημήτριος	Καθηγητής Χειρουργικής με έμφαση στην Ερευνητική – Πειραματική Χειρουργική του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γκλαντζούνης Γεώργιος	Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής- Μεταμοσχεύσεων του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γούσια Άννα	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Πενθερουδάκης Γεώργιος	Αναπληρωτής Καθηγητής Ογκολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Χριστοδούλου Δημήτριος	Αναπληρωτής Καθηγητής Γαστρεντερολογίας του Τμήματος

Μπαλή Χριστίνα

Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Επίκουρη Καθηγήτρια Χειρουργικής του Τμήματος Ιατρικής του
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 12-10-2015

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Μηνάς Πασχόπουλος

Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας

Η Γραμματέας του Τμήματος



ΜΑΡΙΑ ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ

*Αφιερώνω το παρόν εκπόνημα στην οικογένειά μου,
στη σύζυγό μου Ζωή,
στις κόρες μου Ελένη και Δήμητρα,
που μου συμπαραστάθηκαν με αγάπη και υπομονή
στο δύσκολο αυτό έργο*

*Στους γονείς μου,
Δημήτρη και Ελένη,
Που με δημιούργησαν, με σπούδασαν, με στήριξαν*

*Στην αδελφή μου,
Αικατερίνη,
Για την αγάπη και τη στήριξη*

*Ως ελάχιστο φόρο τιμής,
Αφιερώνω τη διατριβή μου
Στον επιβλέποντά μου
κ. Γκλαντζούνη Γεώργιο
που με καθοδήγησε στο επίπονο αυτό έργο,
στα μέλη της τριμελούς Επιτροπής,
κ. Ρούκο Δημήτριο, κα Μπαλή Χριστίνα,
καθώς και στους υπόλοιπους Καθηγητές
της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο καρκίνος του στομάχου αποτελεί την τέταρτη πιο συχνή κακοήθεια και τη δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου σχετιζόμενη με καρκίνο παγκοσμίως. Παρόλες τις προσπάθειες που έχουν γίνει τα τελευταία χρόνια με τη βελτίωση των χειρουργικών τεχνικών, την έκταση της λεμφαδενεκτομής, τη βελτίωση των χημειοθεραπευτικών σχημάτων, τη στοχευμένη θεραπεία και την προσπάθεια εξατομικευμένης αντιμετώπισης των ασθενών, η πενταετής επιβίωση των ασθενών που πάσχουν από τη νόσο αυτή είναι ακόμη και σήμερα πολύ φτωχή (20-25% για όλα τα στάδια).

Για τον λόγο αυτό τα τελευταία χρόνια γίνεται προσπάθεια να κατανοηθούν σε βάθος οι προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του στομάχου, να ανευρεθούν νέοι προγνωστικοί παράγοντες, να διαλευκανθούν αντικρουόμενοι έως τώρα προγνωστικοί παράγοντες, να κατανοηθούν μοριακοί μηχανισμοί υπεύθυνοι για τη νόσο αυτή και πιο συγκεκριμένα να ανευρεθούν πιθανοί γονιδιακοί μηχανισμοί, μεταλλάξεις και καρκινογόνα μονοπάτια που οδηγούν στην επιθετική και πολύπλοκη αυτή νόσο. Όλη αυτή η προσπάθεια γίνεται με σκοπό να βρεθούν βιοδείκτες - προγνωστικοί παράγοντες και επαρκείς στοχευμένες θεραπείες έτσι ώστε η εξατομικευμένη αντιμετώπιση να οδηγήσει τελικά στη βελτίωση της επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο στομάχου.

Η έρευνα σήμερα στον καρκίνο του στομάχου απασχολεί καταξιωμένους ερευνητές σε όλον τον κόσμο.

Γ'αυτόν τον λόγο θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντά μου, Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής-Μεταμοσχεύσεων κ. Γκλαντζούνη Γεώργιο, που με τίμησε με την εμπιστοσύνη του, μου ανέθεσε το θέμα αυτό και με στήριξε, με καθοδήγησε και με βοήθησε κατά τη διάρκεια της εκπόνησής του.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω και τα μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, κ. Ρούκο Δημήτριο και κα Μπαλή Χριστίνα καθώς και τους Καθηγητές της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής για τη στήριξη και την πολύτιμη βοήθειά τους.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Χειρουργικής και Διευθυντή της Χειρουργικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων κ. Κάτσιο Χρήστο για την

εμπιστοσύνη, τη στήριξη και τη βοήθεια που μου προσέφερε. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το Ιατρικό, Νοσηλευτικό και Διοικητικό προσωπικό της Χειρουργικής και της Ογκολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων καθώς και το προσωπικό του Χειρουργείου για την βοήθειά τους στη συλλογή πληροφοριών, φακέλων και δειγμάτων ασθενών που αποτέλεσαν το υλικό του εκπονήματος αυτού.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	3
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
2. ΑΝΑΤΟΜΙΑ-ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	7
2.1 Στόμαχος	7
2.2 Αγγείωση Στομάχου	10
2.2.1 Αρτηριακή Αιμάτωση	10
2.2.2 Φλεβική Αποχέτευση	11
2.2.3 Λεμφική Αποχέτευση	12
2.3 Νεύρωση Στομάχου	13
3. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ	15
3.1 Γενικά Στοιχεία	15
3.1.1 Επιδημιολογία-Αιτιολογία-Γενετική Προδιάθεση-Ειδικά Στοιχεία	15
3.1.2 Διάγνωση-Προεγχειρητική Σταδιοποίηση	18
3.2 Θεραπεία	20
3.2.1 Χειρουργική εκτομή- Ο ρόλος του λεμφαδενικού καθαρισμού	20
3.2.2 Χημειοθεραπεία – Ακτινοθεραπεία	32
3.2.3 Παρηγορική Θεραπεία	33
3.3 Σταδιοποίηση	34
4. ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	39
4.1 Γενικές Αρχές	39
4.2 Κατευθυντήριες Οδηγίες Εξατομικευμένης Αντιμετώπισης	39
4.3 Παραδοσιακοί προγνωστικοί παράγοντες	45
4.4 Μοριακοί βιοδείκτες	52
B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	55
5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	57
6. ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΙ	59
7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	71
8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	107
9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	117
10. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	119
11. SUMMARY	123
Γ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	127

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρώτες ιστορικές αναφορές στον καρκίνο στομάχου περιέχονται στον πάπυρο *Ebers papyrus* που γράφτηκε το 1600 π.Χ (άγνωστο από ποιόν) και στις αναφορές του Ιπποκράτη προς το Γαληνό τον τέταρτο αιώνα π.Χ. Ο Ιπποκράτης ήταν ο πρώτος που χρησιμοποίησε τις λέξεις *Karkinos* και *Karkinoma*, πιστεύοντας ότι αυτή η παθολογία ‘επιτίθεται’ στον οργανισμό διαμέσω της επιδερμίδας και προσβάλλει μαλακά μόρια και εσωτερικά όργανα [1]. Ο αρχαίος Ελληνικός, ο Αιγυπτιακός και ο Ρωμαϊκός πολιτισμός καθώς και αργότερα για δέκα αιώνες η Καθολική Εκκλησία απαγόρευαν την εξέταση ανθρώπινων πτωμάτων. Η πρώτη πιθανή περιγραφή γαστρικού καρκίνου εμπεριέχεται στην Ιατρική εγκυκλοπαίδεια του διάσημου Άραβα ιατρού Avicenna τον 11 αιώνα μ.χ [2]. Η αρχή της σύγχρονης ογκολογικής εποχής έγινε το 1774 από τον Peyrile στην Ακαδημία της Lyon. Το 1835 ο J. Cruveilhier περιέγραψε για πρώτη φορά τα καλοήθη και τα κακοήθη έλκη. Αυτή η περιγραφή εξηγεί και το μυστήριο του θανάτου του Μέγα Ναπολέοντα στις 5 Μαΐου 1821. Η αυτοψία ανέδειξε προχωρημένο νεόπλασμα στο έλασσον τόξο του στομάχου. Το 1839 ο Bayle περιέγραψε την κλινική εικόνα και τα συμπτώματα του γαστρικού καρκίνου [3].

Όμως η επίσημη ιστορία της χειρουργικής αντιμετώπισης του καρκίνου του στομάχου ξεκίνησε στις 9 Απριλίου του 1879 όταν ο διάσημος Γάλλος Jules Emile Pean έκανε την πρώτη γαστρεκτομή για καρκίνο όμως ο ασθενής απεβίωσε την πέμπτη μετεγχειρητική ημέρα [4]. Στις 6 Νοεμβρίου 1880 ο Πολωνός καθηγητής χειρουργικής Ludwig R. von Rydygier, έκανε τη δεύτερη προσπάθεια για γαστρεκτομή όμως ο ασθενής κατέληξε αμέσως μετά την επέμβαση.

Αναμφίβολα, ιστορικό ορόσημο στη χειρουργική του καρκίνου του στομάχου αποτελεί η 22 Ιανουαρίου 1881 όταν έγινε η πρώτη επιτυχημένη υφολική γαστρεκτομή με γαστροδωδεκαδακτυλική αναστόμωση σε μια γυναίκα 42 ετών από τον Theodor Billroth στη Βιέννη. Ιστορικά αναφέρεται ότι χρησιμοποιήθηκαν για την αναστόμωση 54 ράμματα από μετάξι. Η ασθενής εξήλθε την 26η μετεγχειρητική ημέρα και κατέληξε 4 μήνες μετά από υποτροπή της νόσου [5].

Το 1897, ο Ελβετός Karl Schlatter πραγματοποίησε με επιτυχία την πρώτη ολική γαστρεκτομή. Από τότε μέχρι σήμερα τεράστια πρόοδος έχει επιτευχθεί στη χειρουργική ογκολογία. Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά τη διάρκεια του 20^{ου} αιώνα η Ιαπωνία και οι Ανατολικές χώρες αποτέλεσαν χώρες αιχμής στη χειρουργική αντιμετώπιση του καρκίνου του στομάχου [6-10].

2. ΑΝΑΤΟΜΙΑ-ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Η ακριβής γνώση της ανατομίας και φυσιολογίας του στομάχου αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για όσους ιατρούς αντιμετωπίζουν ασθενείς με παθήσεις του στομάχου και ιδιαίτερα εκείνους με νεοπλασματικές νόσους.

2.1 Στόμαχος

Ο στόμαχος προέρχεται εμβρυολογικά από το πρόσθιο έντερο. Συνδέεται κεφαλικά με τον οισοφάγο και περιφερικά με το δωδεκαδάκτυλο. Αποτελεί την πιο διευρυσμένη μοίρα του πεπτικού σωλήνα. Έχει τρεις κύριες λειτουργίες: την αποθήκευση της τροφής, την ανάμειξή της με το γαστρικό υγρό προς τον σχηματισμό ημίρρεστου χυμού και τη ρύθμιση του ρυθμού προώθησης του περιεχομένου προς το λεπτό έντερο. Ο στόμαχος βρίσκεται στην άνω κοιλία και εκτείνεται από την αριστερή υποχόνδρια χώρα προς την επιγάστρια και ομφαλική χώρα. Ένα τμήμα του καλύπτεται από τις κατώτερες πλευρές. Ο στόμαχος έχει το σχήμα του γράμματος J και έχει δύο στόμια το οισοφαγικό (γαστρο-οισοφαγική ή καρδιο-οισοφαγική συμβολή) και το πυλωρικό (γαστροδωδεκαδακτυλική συμβολή ή πυλωρικός σφιγκτήρας), δύο χείλη που ονομάζονται έλασσον και μείζον τόξο και δύο επιφάνειες την πρόσθια και την οπίσθια [11].

Η γαστροοισοφαγική συμβολή βρίσκεται αριστερά του 10^{ου} θωρακικού σπονδύλου, περίπου 2 εκατοστά κάτω από το διάφραγμα. Το πυλωρικό στόμιο βρίσκεται δεξιά του 1^{ου} οσφυϊκού σπονδύλου, όμως μπορεί να βρίσκεται και αρκετά χαμηλότερα αναλόγως της σωματικής διάπλασης, της θέσης του σώματος και της τροφής που περιέχει. Ο στόμαχος βρίσκεται καθηλωμένος σε δύο σημεία: στην γαστροοισοφαγική συμβολή και στο οπισθοπεριτοναϊκό δωδεκαδάκτυλο μέσω του πυλωρού [11-12].

Επιπρόσθετα, ο στόμαχος διαιρείται για περιγραφικούς λόγους σε 5 μέρη: την καρδία, τον θόλο ή πυθμένα, το σώμα, το άντρο και τον πυλωρό (εικόνα 2.1.1). Η καρδία είναι μια μικρή, δύσκολα αναγνωρίσιμη περιοχή δίπλα στην γαστροοισοφαγική συμβολή, ελαφρώς αριστερά της μέσης γραμμής. Ο θόλος βρίσκεται προς τα άνω και αριστερά της γαστροοισοφαγικής συμβολής και συνήθως είναι γεμάτος από αέρα. Το σώμα εκτείνεται από την γαστροοισοφαγική συμβολή μέχρι την

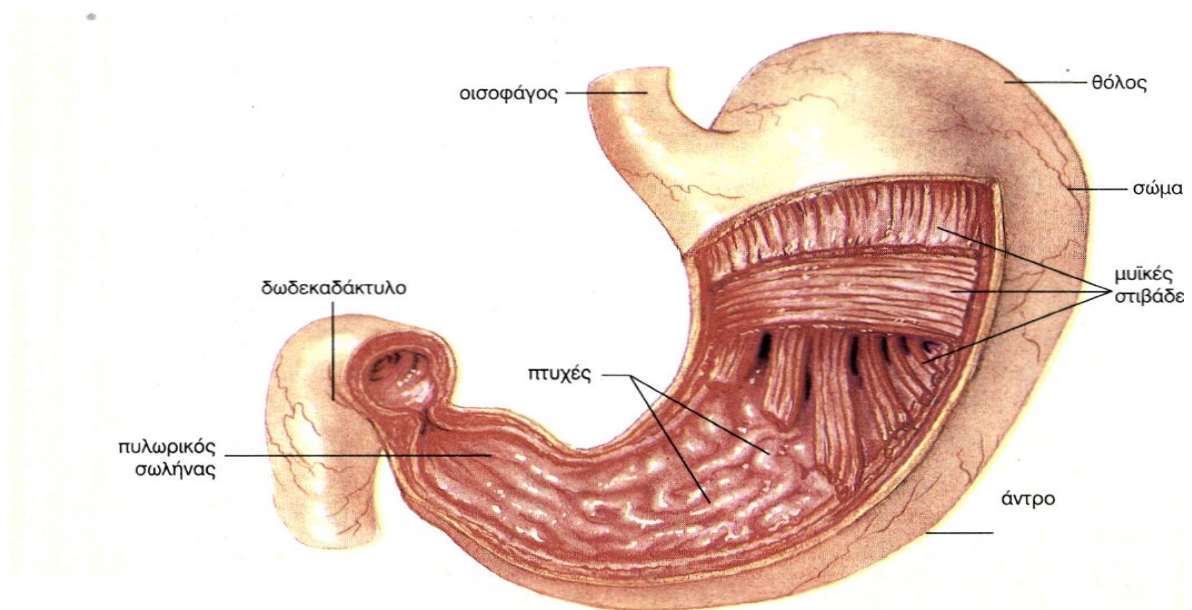
γωνιαία εντομή, μία σταθερή εντομή στο κατώτερο τμήμα του ελάσσονος τόξου. Το άντρο εκτείνεται από την γωνιαία εντομή μέχρι τον πυλωρό. Ο πυλωρός είναι ένα κυλινδρικό τμήμα του στομάχου, το οποίο σχηματίζεται από τον πυλωρικό σφιγκτήρα [11-13].

Το έλασσον τόξο, που σχηματίζει το δεξιό χείλος του στομάχου, εκτείνεται από το καρδιακό στόμιο μέχρι τον πυλωρό. Από αυτό ξεκινά το έλασσον επίπλουν και καταλήγει στο ήπαρ. Το μείζον τόξο του στομάχου, το οποίο σχηματίζει το αριστερό χείλος του, είναι περίπου τέσσερις φορές μεγαλύτερο από το έλασσον. Από το άνω μέρος του μείζονος τόξου ξεκινά ο γαστροσπληνικός σύνδεσμος, ο οποίος εκτείνεται μέχρι τον σπλήνα, ενώ από το κάτω μέρος του μείζονος τόξου ξεκινά το μείζον επίπλουν προς το εγκάρσιο κόλο [12,13].

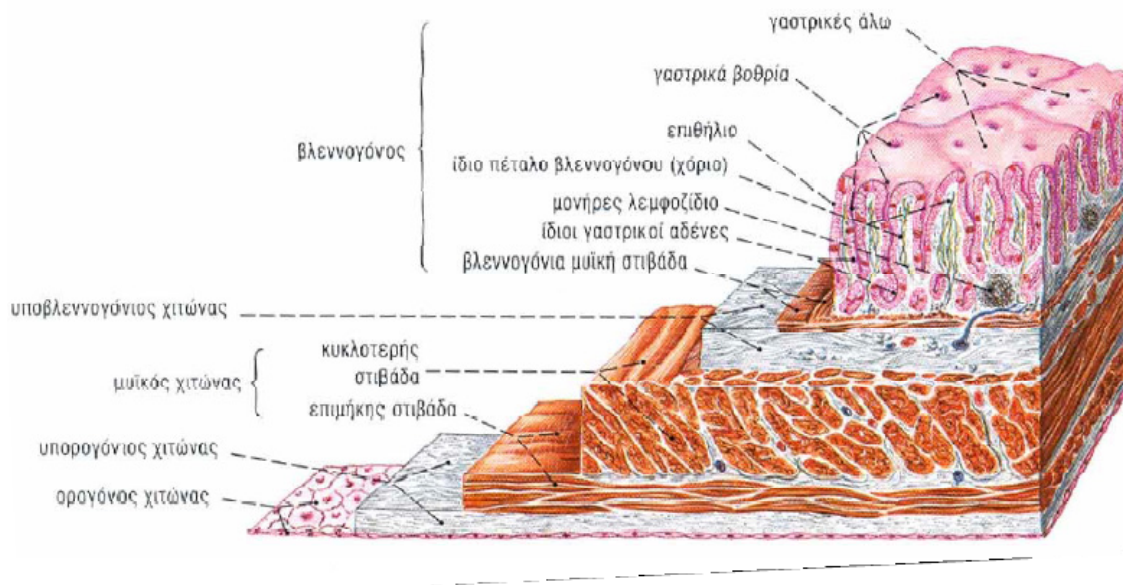
Η γαστροοισοφαγική ή καρδιοοισοφαγική συμβολή αποτελεί το σημείο επικοινωνίας του στομάχου με τον οισοφάγο. Στην γαστροοισοφαγική συμβολή το πλακώδες οισοφαγικό επιθήλιο μεταπίπτει στο κυλινδρικό επιθήλιο του στομάχου σχηματίζοντας έτσι το ενδοσκοπικό όριο των δύο οργάνων την επονομαζόμενη γραμμή Z [14]. Από το διαφραγματικό τρήμα ξεκινά ένα ινοελαστικό στρώμα ιστού, η φρενοοισοφαγική μεμβράνη, η οποία εκτείνεται ως τον οισοφάγο. Πιθανολογείται ότι ο ρόλος της είναι η σταθεροποίηση της γαστροοισοφαγικής συμβολής. Η γαστροοισοφαγική συμβολή λειτουργεί και ως σφιγκτήρας (κάτω οισοφαγικός σφιγκτήρας) χωρίς όμως να έχει πιστοποιηθεί ανατομικά η ύπαρξή του. Παρόλα αυτά, αναμφίβολα, υπάρχει ένας μηχανισμός που παρεμποδίζει την παλινδρόμηση του περιεχομένου του στομάχου προς τον οισοφάγο. Το πυλωρικό στόμιο σχηματίζεται από τον πυλωρικό σωλήνα, ο οποίος έχει μήκος περίπου 2,5 εκατοστά. Σε αυτό το σημείο ο κυκλοτερής μυϊκός χιτώνας είναι παχύτερος σχηματίζοντας έτσι τον πυλωρικό σφιγκτήρα, ο οποίος ρυθμίζει την πρόωση του γαστρικού περιεχομένου προς το δωδεκαδάκτυλο [14,15].

Το τοίχωμα του στομάχου αποτελείται από 4 χιτώνες: τον βλεννογόνο, τον υποβλεννογόνο, τον μυϊκό και τον ορογόνο (εικόνα 2.1.2). Ο βλεννογόνος, ο οποίος αποτελείται από μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο, καλύπτει όλο τον αυλό του στομάχου είναι παχύς και αγγειοβριθής και υπό φυσιολογικές συνθήκες έχει απαλή βελούδινη εμφάνιση και ροζ χρώμα. Σχηματίζει πολυάριθμες επιμήκεις πτυχές, οι οποίες εμφανίζονται και στον υποβλεννογόνο, είναι κινητές και εξαλείφονται κατά την διάταση του στομάχου. Όμως, ο βλεννογόνος δεν αποτελείται μόνο από τα κυλινδρικά επιθηλιακά κύτταρα

αλλά και από την υποκείμενη χοριακή στιβάδα (lamina propria), η οποία είναι ένα στρώμα χαλαρού συνδετικού ιστού πλούσιο σε αιμοφόρα αγγεία, λεμφαγγεία και κύτταρα του ανοσοποιητικού. Στο χόριο επίσης ανευρίσκονται αδενικά εκκριτικά κύτταρα, τα οποία εκκρίνουν τις διάφορες ουσίες (π.χ. υδροχλωρικό οξύ από τα τοιχωματικά κύτταρα, πεψίνη από τα θεμέλια κύτταρα). Τέλος στον βλεννογόνο ανήκει και η βλεννογόνιος μυϊκή στιβάδα (muscularis propria), η οποία αποτελείται από μια λεπτή στιβάδα λείων μυϊκών ινών, με κυκλοτερή διάταξη προς τα έξω και επιμήκη διάταξη προς τα έξω. Ο υποβλεννογόνιος αποτελείται από ένα στρώμα χαλαρού συνδετικού ιστού, αμέσως κάτω από τον βλεννογόνο, που περιέχει αιμοφόρα αγγεία και λεμφαγγεία μεγαλύτερου μεγέθους από ότι αυτά του βλεννογόνου. Στον υποβλεννογόνιο βρίσκεται επίσης και το νευρικό πλέγμα του Meissner [16-18]. Θεωρείται ότι αυτό ελέγχει την εκκριτική λειτουργία του στομάχου. Ο μυϊκός χιτώνας αποτελείται από λείες μυϊκές ίνες και είναι υπεύθυνος για την κινητικότητα του στομάχου. Διακρίνονται δύο στιβάδες μυϊκών ινών: μια κυκλοτερής έσω στιβάδα και μία επιμήκης έξω στιβάδα. Μεταξύ των δύο αυτών στιβάδων βρίσκεται το μυντερικό πλέγμα του Auerbach, το οποίο συμβάλλει στην κινητικότητα του στομάχου. Ο ορογόνος είναι η τελευταία προς τα έξω στιβάδα και αποτελείται από ένα στρώμα συνδετικού και λιπώδους ιστού μέσα από το οποίο διέρχονται διάφορα αιμοφόρα αγγεία και νεύρα [18-20].



ΕΙΚΟΝΑ 2.1.1: Ανατομία στομάχου



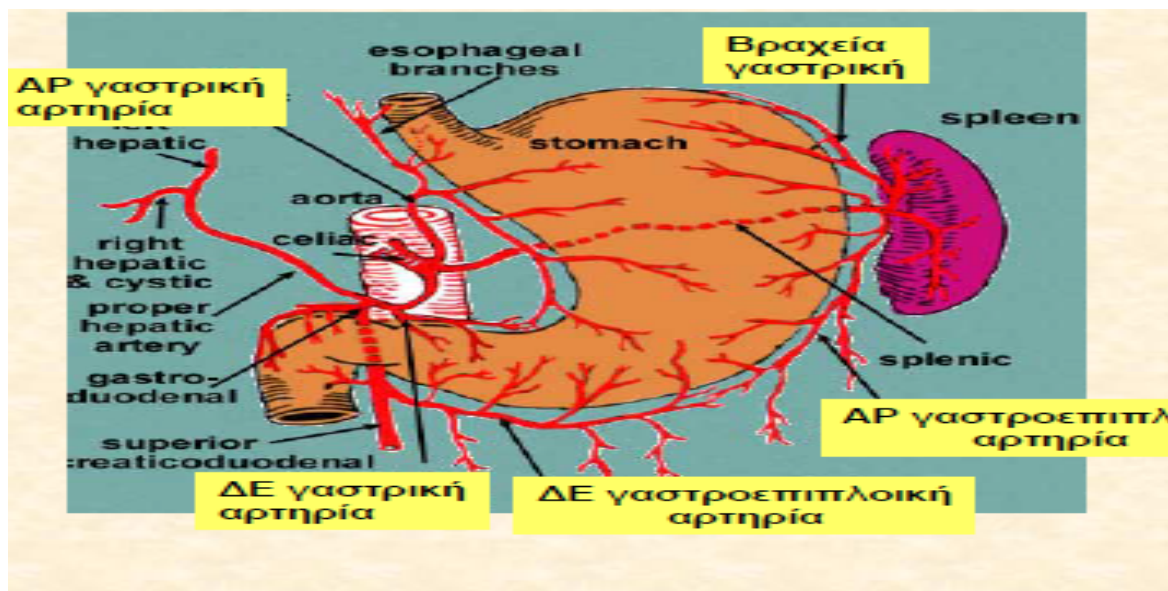
ΕΙΚΟΝΑ 2.1.2: Ιστολογία τοιχώματος στομάχου

2.2 Αγγείωση Στομάχου

2.2.1 Αρτηριακή Αιμάτωση

Οι αρτηρίες του στομάχου προέρχονται από κλάδους της κοιλιακής αρτηρίας. Η αριστερή γαστρική αρτηρία, κλάδος της κοιλιακής αρτηρίας, πορεύεται προς τα άνω και αριστερά μέχρι την κατώτερη μούρα του οισοφάγου και στη συνέχεια κατέρχεται κατά μήκος του ελάσσονος τόξου του στομάχου, αιματώνοντας το κατώτερο τριτημόριο του οισοφάγου και τη δεξιά πλευρά του ανώτερου μέρους του στομάχου. Η δεξιά γαστρική αρτηρία, κλάδος κυρίως της ιδίως ηπατικής αρτηρίας (53 %) και λιγότερο συχνά της κοινής ηπατικής (20 %) ή της αρ. ηπατικής 15 %), πορεύεται κατά μήκος του ελάσσονος τόξου. Αρδεύει την δεξιά πλευρά του κατώτερου μέρους του στομάχου. Οι βραχείες γαστρικές αρτηρίες εκφύονται από την σπληνική αρτηρία (κλάδος της κοιλιακής αρτηρίας) στην πύλη του σπλήνα και πορεύονται προς τα εμπρός μέσα στο γαστροσπληνικό σύνδεσμο. Διανέμονται στον θόλο του στομάχου. Η αριστερή γαστροεπιπλοϊκή αρτηρία, κλάδος της σπληνικής αρτηρίας, ξεκινά από την πύλη του σπλήνα και πορεύεται προς τα εμπρός μέσα στον γαστροσπληνικό σύνδεσμο. Διανέμονται στο τοίχωμα του στομάχου κατά μήκος του άνω μέρους του μείζονος τόξου. Η δεξιά γαστροεπιπλοϊκή αρτηρία, κλάδος της γαστροδωδεκαδακτυλικής αρτηρίας (κλάδος της κοινής

ηπατικής αρτηρίας), πορεύεται προς τα αριστερά και αρδεύει το τοίχωμα του στομάχου κατά μήκος του κατώτερου μέρους του μείζονος τόξου και αναστομώνεται με την αρ. γαστροεπιπλοική (εικόνα 2.2.1.1). Αυτά τα αγγεία αιματώνουν τους μυϊκούς χιτώνες, διακλαδώνονται στην υποβλεννογόνο στιβάδα και τελικά καταλήγουν στον βλεννογόνο [21].

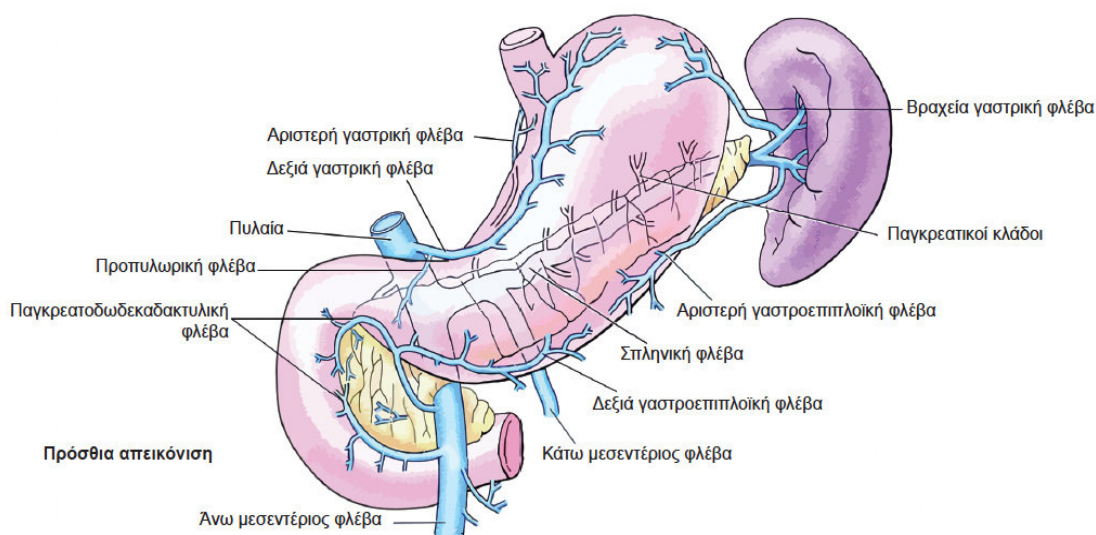


ΕΙΚΟΝΑ 2.2.1.1: Αιμάτωση στομάχου

2.2.2 Φλεβική αποχέτευση

Οι φλέβες του στομάχου απάγουν το αίμα προς την πυλαία κυκλοφορία. Η δεξιά και η αριστερή γαστρική φλέβα απάγουν το αίμα κατευθείαν στην πυλαία. Οι βραχείες γαστρικές φλέβες και οι αριστερές γαστροεπιπλοϊκές φλέβες εκβάλλουν στην σπληνική φλέβα, ενώ η δεξιά γαστροεπιπλοϊκή φλέβα εκβάλλει στην άνω μεσεντέρια φλέβα (εικόνα 2.2.2.1). Στην πυλαία υπέρταση (όταν η πίεση στην πυλαία φλέβα υπερβαίνει τα 10mmHg) υπάρχει παρεμπόδιση της ροής του αίματος δια μέσω του ήπατος. Αυτό προκαλεί διαστολή των παράπλευρων οδών μεταξύ της πυλαίας και της συστηματικής φλεβικής κυκλοφορίας. Στην περίπτωση της κίρρωσης όσο και στην θρόμβωση της πυλαίας φλέβας, τα παράπλευρα αγγεία φαίνεται πως μεταφέρουν αίμα στη συστηματική κυκλοφορία παρακάμπτοντας το ήπαρ και είναι αυτά που προκαλούν οισοφαγικούς και γαστρικούς κίρσους. Στη μεμονωμένη θρόμβωση της σπληνικής υπάρχει φλεβική υπέρταση εντοπιζόμενη μόνο στο σπλήνα με αποτέλεσμα

το σχηματισμό παράπλευρων αγγείων από το σπλήνα στο θόλο του στομάχου. Από εκεί το αίμα επιστρέφει στο κυρίως πυλαίο σύστημα δια μέσω της αρ γαστρικής φλέβας. Στην περίπτωση αυτή υπάρχουν συχνά γαστρικοί κίρσοι, όχι όμως και οισοφαγικοί κίρσοι. Αυτόματη αιμορραγία είναι σπάνια στους κίρσους που σχηματίζονται ως αποτέλεσμα της πυλαίας υπέρτασης, με την εξαίρεση των κίρσων της γαστροοισοφαγικής συμβολής. Συγκρινόμενο με άλλες περιοχές του στομάχου και του οισοφάγου, το τμήμα αυτό είναι πλούσιο σε υποβλεννογόνιες φλέβες που διατείνονται δυσανάλογα στους ασθενείς με πυλαία υπέρταση. Η ρήξη κάποιας από αυτές τις φλέβες λόγω αιφνίδιας αύξησης της υδροστατικής πίεσης οδηγεί στην κίρσορραγία [22].

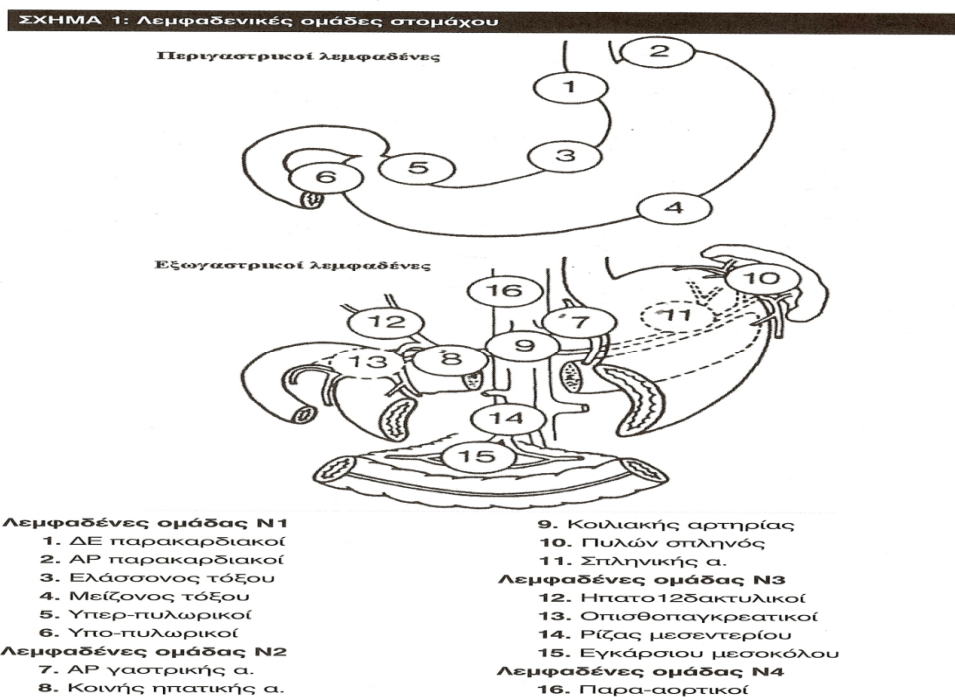


ΕΙΚΟΝΑ 2.2.2.1: Φλεβική αποχέτευση στομάχου

2.2.3 Λεμφική παροχέτευση

Τα λεμφαγγεία του στομάχου βρίσκονται σε συνέχεια με εκείνα του οισοφάγου κατά την γαστροοισοφαγική συμβολή και με εκείνα του δωδεκαδακτύλου κατά τον πυλωρό. Η λέμφος από το άνω τμήμα του στομάχου κατά μήκος του ελάσσονος τόξου ρέει κατευθείαν προς τους άνω γαστρικούς λεμφαδένες, που περιβάλλουν την αριστερή γαστρική αρτηρία. Το κάτω τμήμα του στομάχου παροχετεύει την λέμφο προς τους υπερπυλωρικούς και επιπλοϊκούς λεμφαδένες και τελικά καταλήγει στους κοιλιακούς λεμφαδένες. Το άνω τμήμα του στομάχου κατά μήκος του μείζονος

τόξου παροχετεύεται από τους παγκρεατικούς ή σπληνικούς λεμφαδένες και τελικά τους λεμφαδένες της κοιλιακής αρτηρίας. Είναι ευρέως αποδεκτό σήμερα ότι η εκτεταμένη λεμφαδενεκτομή για τον καρκίνο στομάχου οδηγεί αν μη τι άλλο σε καλύτερη σταδιοποίηση της νόσου. Σύμφωνα με τις οδηγίες της Ιαπωνικής χειρουργικής εταιρίας οι λεμφαδένες της ανώτερης κοιλιακής χώρας ταξινομούνται σε 4 ομάδες (N1-N4/16 λεμφαδενικοί σταθμοί) (εικόνα 2.2.3.1), η κάθε μία από τις οποίες σχετίζεται με την προοδευτικά αυξανόμενη απόσταση από το στομάχι [23,24]. Η σημασία του λεμφαδενικού καθαρισμού στον καρκίνο του στομάχου αναλύεται λεπτομερώς παρακάτω (κεφάλαιο 3.2.1).



ΕΙΚΟΝΑ 2.2.3.1: Λεμφαδενικοί σταθμοί στομάχου

2.3 Νεύρωση Στομάχου

Η νεύρωση του στομάχου προέρχεται από το κοιλιακό πλέγμα του συμπαθητικού συστήματος και από το δεξιό και αριστερό πνευμονογαστρικό νεύρο. Το πρόσθιο σκέλος του πνευμονογαστρικού, το οποίο σχηματίζεται στον θώρακα από το αριστερό πνευμονογαστρικό, εισέρχεται στην κοιλία πορευόμενο στην πρόσθια επιφάνεια του στομάχου, όπου και διαιρείται σε μικρότερους κλάδους (προς το ήπαρ ή τον πυλωρό). Το οπίσθιο σκέλος του πνευμονογαστρικού, σχηματίζεται στον θώρακα από το δεξιό

πνευμονογαστρικό και εισέρχεται στην κοιλία πορευόμενο στην οπίσθια επιφάνεια του οισοφάγου, όπου και διαιρείται σε μικρότερους κλάδους (προς το πάγκρεας ή το έντερο μέχρι την κολική καμπή). Τα ερεθίσματα του πόνου μεταφέρονται με συμπαθητικές ίνες, ενώ οι παρασυμπαθητικές ίνες είναι εκκριτικές για τους γαστρικούς αδένες και κινητικές για το μυϊκό τοίχωμα του στομάχου [25,26].

3. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟΜΑΧΟΥ

3.1 Γενικά Στοιχεία

Το αδενοκαρκίνωμα στομάχου αποτελεί τον πιο συχνό κακοήθη όγκο του στομάχου (>95%) και θεωρείται πλέον 'Παγκόσμια ασθένεια'. Αναφέρεται ότι οι ασθενείς έχουν φτωχή πρόγνωση και ότι το αδενοκαρκίνωμα στομάχου με επίπτωση 640.000 περιπτώσεις ετησίως αποτελεί την τέταρτη κατά σειρά κακοήθεια στον κόσμο για τους άντρες και με 350.000 νέες περιπτώσεις ετησίως την πέμπτη κατά σειρά κακοήθεια για τις γυναίκες [27].

3.1.1 Επιδημιολογία-Αιτιολογία-Γενετική Προδιάθεση-Ειδικά Στοιχεία

Στη διεθνή βιβλιογραφία υποστηρίζεται ότι ο λόγος άντρες/γυναίκες ανέρχεται σε 1,75/1 ανεξάρτητα από τη γεωγραφική προέλευση [28]. Επίσης αξίζει να αναφερθεί ότι ο καρκίνος στομάχου αποτελεί τη δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου από κακοήθη νεοπλάσματα παγκοσμίως, ενώ η συχνότητά του αυξάνεται με την άνοδο της ηλικίας (μέγιστη επίπτωση 60-80 έτη). Μεγάλη ποικιλομορφία παρατηρείται στην επίπτωση του παγκοσμίως. Υψηλή συχνότητα, που λαμβάνει διαστάσεις επιδημικού χαρακτήρα (μέχρι και 69 περιπτώσεις/100.000 άτομα/έτος) υπάρχει στους άντρες της Βορειοανατολικής Ασίας (Ιαπωνία-Κορέα-Κίνα) [29]. Αντίθετα, μόλις 4-10 περιπτώσεις/100.000 άτομα περιγράφονται στους κατοίκους της Βόρειας Αμερικής, της Αφρικής, της Νότιας Ασίας, της Αυστραλίας και της Νέας Ζηλανδίας. Περιπτώσεις σε ασθενείς νεότερους των τριάντα ετών είναι σποραδικές και ιδιαίτερα σπάνιες. Ο καρκίνος μπορεί να αναπτυχθεί σε όλες τις ανατομικές περιοχές του στομάχου [30]. Περιφερικά αδενοκαρκινώματα παρατηρούνται ως επί το πλείστον σε αναπτυσσόμενες περιοχές, σε έγχρωμους και σε χαμηλά οικονομικο-κοινωνικά στρώματα. Διαιτητικοί παράγοντες και το *Helicobacter pylori* (HP) αποτελούν ισχυρούς παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης περιφερικών καρκίνων. Οι καρκίνοι κεντρικότερης εντόπισης είναι πιο συχνοί σε αναπτυγμένες χώρες, σε Καυκάσιους και στα υψηλά οικονομικο-κοινωνικά στρώματα [31,32]. Σημαντικούς παράγοντες κινδύνου αποτελούν η γάστρο-οισοφαγική παλινδρόμηση και η παχυσαρκία. Οι περιφερικοί καρκίνοι υπερτερούν στην Ιαπωνία, ενώ οι κεντρικοί καρκίνοι υπερτερούν στο Δυτικό κόσμο. Οι γεωγραφικές διαφορές στην επίπτωση του καρκίνου του στομάχου υποστηρίζεται ότι δεν

μπορούν να στηριχτούν μόνο σε φυλετικές διαφορές. Διάφοροι παράγοντες ίσως διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο [32].

Διαιτητικοί παράγοντες (δίαιτα φτωχή σε φυτικές ίνες και πλούσια σε συντηρητικά και αλάτι), περιβαλλοντικοί παράγοντες, το κάπνισμα, το *H. pylori*, η υπερτροφική γαστρίτις (v. Menetrier), καθώς και η γενετική προδιάθεση, φαίνεται να έχουν σχέση με την κακοήθη αυτή νόσο. Ο κληρονομικός διάχυτος γαστρικός καρκίνος φαίνεται να αποτελεί σήμερα το 1%-3% του γαστρικού καρκίνου και είναι ένα κληρονομικό σύνδρομο με αυτοσωμικό επικρατούντα τρόπο κληρονόμησης [33]. Διαγιγνώσκεται κλινικά βάσει του οικογενειακού ιστορικού και επιβεβαιώνεται με γενετική ανάλυση. Έχουν ταυτοποιηθεί μεταλλάξεις της σπερματικής κυτταρικής σειράς στο γονίδιο *CDH1* που κωδικοποιεί την ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη E-cadherin [33,34]. Η ανίχνευση παθογόνου μετάλλαξης στο γονίδιο αυτό, επιτρέπει τον εντοπισμό φορέων και μη, στα μέλη της οικογένειας με συνέπεια τη λήψη μέτρων προφύλαξης για τους φορείς. Το υπολογίσιμο lifetime ρίσκο σε ασθενείς με *CDH1* μετάλλαξη είναι 67% στους άντρες και 83% στις γυναίκες [35]. Έτσι λοιπόν το σενάριο της πρόληψης με εξατομικευμένη προφυλακτική ολική γαστρεκτομή σε ασθενείς που είναι φορείς μεταλλάξεων θα πρέπει να αξιολογείται προσεκτικά από τους θεράποντες ιατρούς αυτών των ασθενών. Ο γαστρικός καρκίνος (περιπτώσεις σποραδικού καρκίνου), θεωρείται σήμερα αποτέλεσμα συσσωρευμένης γονιδιακής μετάλλαξης που πλήττει κυτταρικές λειτουργίες (αντίσταση στη φυσιολογική απόπτωση, νεοαγγειογένεση, δημιουργία κυτταρικού δυναμικού διήθησης ή μετάστασης) [36].

Ιδιαίτερο βάρος πρέπει να δοθεί στην πρόληψη με την εκρίζωση των HP λοιμώξεων και την παρακολούθηση ενδοσκοπικά και ιστολογικά των προκαρκινωματωδών αλλοιώσεων και καταστάσεων, καθώς και στην έγκαιρη διάγνωση στο στάδιο του πρώιμου γαστρικού καρκινώματος. Η 5-ετής επιβίωση μετά από χειρουργική εκτομή σε περιπτώσεις πρώιμου γαστρικού καρκινώματος αγγίζει το 90 % σύμφωνα με Ιαπωνικές και Ευρωπαϊκές μελέτες. Η λεμφαδενική 'συμμετοχή' στον πρώιμο γαστρικό καρκίνο αγγίζει μόνο το 3% όταν επηρεάζεται μόνο ο βλεννογόνος, ενώ φτάνει μέχρι το 15% όταν υπάρχει και υποβλεννογόνια συμμετοχή. Από το ποσοστό των λεμφαδενικών μεταστάσεων σε πολύ πρώιμους καρκίνους, προκύπτει ότι και η έκταση της λεμφαδεκτομής μπορεί να εξατομικευθεί και να είναι περιορισμένη [36,37].

Είναι αποδεδειγμένο ότι πάνω από το 90% των γαστρικών καρκίνων είναι αδενοκαρκινώματα. Το μικρό υπόλοιπο αποτελείται από λεμφώματα και στρωματικούς ογκούς [38].

Περιγράφονται 2 διαφορετικοί τύποι (Lauren 1965) γαστρικού αδενοκαρκινώματος: εντερικός (καλής διαφοροποίησης, ~50%) και διάχυτος (χαμηλής διαφοροποίησης, ~33%). Αυτοί οι δύο τύποι αδενοκαρκινώματος έχουν διαφορετική μορφολογία, παθογένεση, και γενετικό υπόβαθρο. Το υπόλοιπο 17% των αδενοκαρκινωμάτων στομάχου είναι μικτού ή μη ταξινομήσιμου τύπου. Το αδενοκαρκίνωμα εντερικού τύπου σχετίζεται αιτιολογικά με το *HP* [39]. Ενώ η λοίμωξη ξεκινά νωρίς στην παιδική ηλικία ή στην εφηβεία, οι όγκοι διαγιγνώσκονται κλινικά σε 4 ή και περισσότερες δεκαετίες. Μια σειρά από γεγονότα και προκαρκινικές διαδικασίες συμβαίνουν στη διάρκεια αυτής της μακράς περιόδου: χρόνια ενεργή ατροφική γαστρίτιδα, πολυκεντρική ατροφική γαστρίτιδα, εντερική μεταπλασία, δυσπλασία και διηθητικό καρκίνωμα. Ο εντερικός τύπος είναι κοινός στους ηλικιωμένους. Η τυπική θέση αυτού του τύπου αδενοκαρκινώματος είναι το άντρο και το έλασσον τόξο του στομάχου [40]. Τις τελευταίες δεκαετίες, έχει σημειωθεί μείωση στην επίπτωση του εντερικού τύπου αδενοκαρκινώματος στομάχου και αυτό αποδίδεται στην καλύτερευση της κοινωνικο-οικονομικής κατάστασης, της διατροφής, της διατήρησης των τροφίμων καθώς και στη μείωση της επίπτωσης της λοίμωξης από *HP*. Ο διάχυτος τύπος αδενοκαρκινώματος είναι κοινός σε νέους ασθενείς με γενετική προδιάθεση, είναι χαμηλής διαφοροποίησης, αναπτύσσεται γρήγορα και αποτελείται από κύτταρα χωρίς αδενικούς σχηματισμούς [40,41]. Οι ασθενείς με διάχυτου τύπου αδενοκαρκίνωμα στομάχου έχουν χειρότερη πρόγνωση σε σχέση με τους ασθενείς με εντερικού τύπου καρκινώματα. Τυπικά είναι τα επονομαζόμενα κύτταρα ‘δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου’ [42].

Αξίζει επίσης να αναφερθεί ότι το αδενοκαρκίνωμα στομάχου δημιουργείται από την επιθηλιακή στιβάδα του γαστρικού βλεννογόνου και διηθεί κατά βάθος το τοίχωμα του στομάχου. Τα γαστρικά καρκινικά κύτταρα επεκτείνονται μέσω των λεμφαγγείων στους περιοχικούς λεμφαδένες και αιματογενώς δίνουν απομακρυσμένες μεταστάσεις. Το ήπαρ αποτελεί την πιο συχνή θέση μετάστασης του γαστρικού καρκίνου [43]. Αξίζει να σημειωθεί ότι όταν υπάρχει διήθηση του βλεννογόνου χιτώνα οι λεμφαδενικές μεταστάσεις είναι εξαιρετικά σπάνιες. Στις περιπτώσεις που διηθείται ο υποβλεννογόνιος χιτώνας το ποσοστό λεμφαδενικής εμπλοκής ανέρχεται στο 15%, ενώ όταν διηθείται

η μυϊκή στιβάδα το ποσοστό αυξάνεται στο 50%. Επιπλέον όταν το νεόπλασμα διηθεί τον ορογόνο χιτώνα, υπάρχει πολύ μεγάλη πιθανότητα λεμφαδενικής διήθησης και επιπρόσθετα μπορεί να διηθήσει γειτονικούς ιστούς και όργανα (όπως πάγκρεας, σπλήνας, παχύ έντερο) ή να εξαπλωθεί σε πολλαπλές θέσεις εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας προκαλώντας περιτοναϊκή καρκινωμάτωση [44].

3.1.2 Διάγνωση-Προεγχειρητική Σταδιοποίηση

Το αδενοκαρκίνωμα στομάχου σε πρώιμα στάδια προκαλεί λίγα και άτυπα συμπτώματα, ενώ σε προχωρημένα στάδια μπορεί να προκαλέσει έντονη απώλεια βάρους, αιμορραγία, συμπτώματα απόφραξης του στομάχου (τροφώδεις εμέτους ή δυσφαγία) επιγαστρική δυσφορία και/ή ανορεξία. Χαρακτηριστική είναι πολλές φορές η απέχθεια των ασθενών προς το κρέας [45]. Στην Ανατολική Ασία και ειδικά στην Ιαπωνία και στην Κορέα, διαδεδομένα προγράμματα ομαδικού ελέγχου (screening) που δικαιολογούνται απόλυτα από την υψηλή επίπτωση του αδενοκαρκινώματος στομάχου σε αυτές τις περιοχές, οδήγησαν σε πολύ σημαντικά ποσοστά πρώιμης διάγνωσης σε πολλούς ασθενείς: 50% των περιπτώσεων διαγιγνώσκονται με πρώιμους καρκίνους (βλεννογονικοί όγκοι) [46]. Δυστυχώς στις περισσότερες άλλες χώρες και κυρίως στην Ευρώπη και στην Αμερική, ο γαστρικός καρκίνος διαγιγνώσκεται ενδοσκοπικά σε προχωρημένα στάδια: περιγράφεται ότι μόνο το 10-15% των περιπτώσεων είναι σε αρχικά στάδια και ότι σε ποσοστό άνω του 50% υπάρχουν ήδη μεταστάσεις στους περιοχικούς λεμφαδένες κατά τη διάγνωση [47]. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι παρόλη την πρόοδο σε διαγνωστικές, χειρουργικές τεχνικές, καθώς και στις χημειο-ακτινοθεραπευτικές μεθόδους, ο καρκίνος στομάχου παραμένει μια πολύ επιθετική μορφή καρκίνου, ειδικά στις Δυτικές χώρες. Η 5-ετής επιβίωση για όλα τα στάδια ανέρχεται στο 25%-30% και η μέση επιβίωση είναι περίπου 24 μήνες [48].

Όσον αφορά την προεγχειρητική σταδιοποίηση οι ασθενείς με υποψία καρκίνου του στομάχου πρέπει να υποβληθούν για τη διάγνωση και τη σταδιοποίησή τους σε: α) πλήρη αντικειμενική εξέταση (ιστορικό και φυσική εξέταση) β) εργαστηριακό έλεγχο (γενική αίματος, βιοχημικός έλεγχος, καρκινικοί δείκτες (CEA, CA 19.9) γ) οισοφαγογαστροσκόπηση με λήψη έως έξι βιοψιών δ) ακτινογραφία θώρακος ή κατά προτίμηση αξονική τομογραφία θώρακος (μεγαλύτερη ευαισθησία)

ε) αξονική τομογραφία άνω και κάτω κοιλίας με ενδοφλέβια χορήγηση σκιαγραφικού ζ) αξονική τομογραφία θώρακος (για όγκους στην εγγύς μοίρα του στομάχου) η) ενδοσκοπικό υπερηχογράφημα (αμφιλεγόμενος ο ρόλος του - δεν υπάρχουν καθορισμένες ενδείξεις) θ) τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET scan) και ι) διαγνωστική λαπαροσκόπηση (staging laparoscopy) (συνιστάται σε κάποιες περιπτώσεις όπου ακόμη και η αξονική τομογραφία δεν αποτυπώνει ακριβώς την έκταση της νόσου. Μπορεί να χρειασθεί ο ασθενής να υποβληθεί σε λαπαροσκόπηση και ανάλογα με τα ευρήματα ο χειρουργός να προχωρήσει σε επέμβαση ή να συστήσει στον ασθενή χημειοθεραπεία. Αυτή η τακτική κερδίζει συνεχώς έδαφος διότι έχει βρεθεί ότι σε πολλές περιπτώσεις, η αξονική τομογραφία δεν μπορεί να αναδείξει περιπτώσεις όπου ο καρκίνος έχει επεκταθεί στο περιτόναιο ή υπάρχει διασπορά καρκινικών κυττάρων που μπορεί να βρεθεί μόνο με κυτταρολογική εξέταση του υγρού της κοιλίας) [49]. Η ενδοσκόπηση του ανωτέρου πεπτικού με ταυτόχρονη λήψη βιοψιών παραμένει η μέθοδος εκλογής για τη διάγνωση του καρκίνου του στομάχου.

Η αξονική τομογραφία, η οποία εφαρμόζεται στον προεγχειρητικό έλεγχο των ασθενών με καρκίνο του στομάχου, είναι πολύ χρήσιμη καθώς μπορεί να ανιχνεύσει μεταστάσεις στο ήπαρ, τοπική διήθηση παρακείμενων δομών, περιοχική και απομακρυσμένη λεμφαδενική διήθηση, καθώς επίσης και την ύπαρξη ασκίτη [50]. Επιπρόσθετα, το ενδοσκοπικό υπερηχογράφημα αποτελεί ένα αξιόλογο μέσο για τη σταδιοποίηση των ασθενών με τοπική και περιοχική νόσο, καθορίζοντας με αξιοπιστία το βάθος διήθησης και τη λεμφαδενική συμμετοχή. Η συνολική του ακρίβεια είναι περίπου 75-80%, ωστόσο εξαρτάται σημαντικά από την εμπειρία του εξεταστή. Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET – positron emission tomography), με φθοριομένη γλυκόζη (18-FDG), μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την προεγχειρητική σταδιοποίηση σε ορισμένες περιπτώσεις (όταν χρειάζεται περισσότερη ακρίβεια για να χαρακτηριστεί μια ύποπτη απομακρυσμένη βλάβη που προέκυψε από άλλες απεικονιστικές μεθόδους). Ωστόσο, λόγω του κόστους της και της ελάχιστης εμπειρίας στη χρήση της δεν είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη [51]. Η διαγνωστική λαπαροσκόπηση είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στην ανίχνευση μικρού μεγέθους περιτοναϊκών και ηπατικών μεταστάσεων, με αποτέλεσμα ασθενείς με μεταστατική νόσο και χαμηλό προσδόκιμο επιβίωσης να μην υποβάλλονται άσκοπα σε μια λαπαροτομία [52].

3.2 Θεραπεία

3.2.1 Χειρουργική εκτομή - Ο ρόλος του λεμφαδενικού καθαρισμού

Στόχος όλων των χειρουργών που ασχολούνται με τον καρκίνο του στομάχου είναι η ογκολογικά επαρκής χωρίς μικροσκοπικά ή μακροσκοπικά υπολειπόμενη νόσο (R0) χειρουργική εκτομή συνδυασμένη με τον απαραίτητο πλήρη λεμφαδενικό καθαρισμό. Όλοι οι χειρουργοί ανώτερου πεπτικού συμφωνούν ότι η άνω χειρουργική προσέγγιση αποτελεί τη μοναδική πιθανότητα μακράς επιβίωσης για τους ασθενείς με αδenoκαρκίνωμα στομάχου [53]. Ο τύπος και η έκταση της γαστρεκτομής βασίζεται κατά κύριο λόγο στην εντόπιση του όγκου (πίνακας 3.2.1.1) και κατά δεύτερο λόγο στον ιστολογικό τύπο. Αξίζει να αναφερθεί ότι μετά τη σημαντική δημοσίευση της μελέτης του Bozzetti και συν. [54], και άλλες μελέτες [55,56] επιβεβαίωσαν την ογκολογική επάρκεια της υφολικής γαστρεκτομής. Ο στόχος της επίτευξης ογκολογικά επαρκούς γαστρεκτομής, διατηρώντας πάντα το εγγύς εγχειρητικό όριο των 6 εκ., συνέβαλε στην παγκόσμια διασπορά της περιορισμένης-υφολικής γαστρεκτομής ανεξάρτητα από τον ιστολογικό τύπο του όγκου [57].

Εντόπιση	Κλινικό Στάδιο	Έκταση γαστρεκτομής
Άνω τριτημόριο	cT1cN0	Ανάστροφη γαστρεκτομή ^a
(καρδία/θόλος)	> cT1cN0	Ολική γαστρεκτομή
Μέσω τριτημόριο (σώμα)	cT1cN0	Γαστρεκτομή με διατήρηση του πυλωρού ^b
	>cT1cN0	Υφολική γαστρεκτομή ^a
Κάτω τριτημόριο (άντρο)	Κάθε cT, κάθε cN	Υφολική γαστρεκτομή

^a Μόνο όταν το όριο των 6 εκ. μπορεί να επιτευχθεί.

^b Μόνο όταν το απομακρυσμένο όριο του όγκου είναι τουλάχιστον σε 5 εκ. απόσταση από τον πυλωρό.

Πίνακας 3.2.1.1. Οδηγίες για την έκταση της γαστρεκτομής σε σχέση με την εντόπιση του όγκου και το στάδιο της νόσου [57,58]

- **Όγκοι κάτω και μέσω τριτημορίου στομάχου**

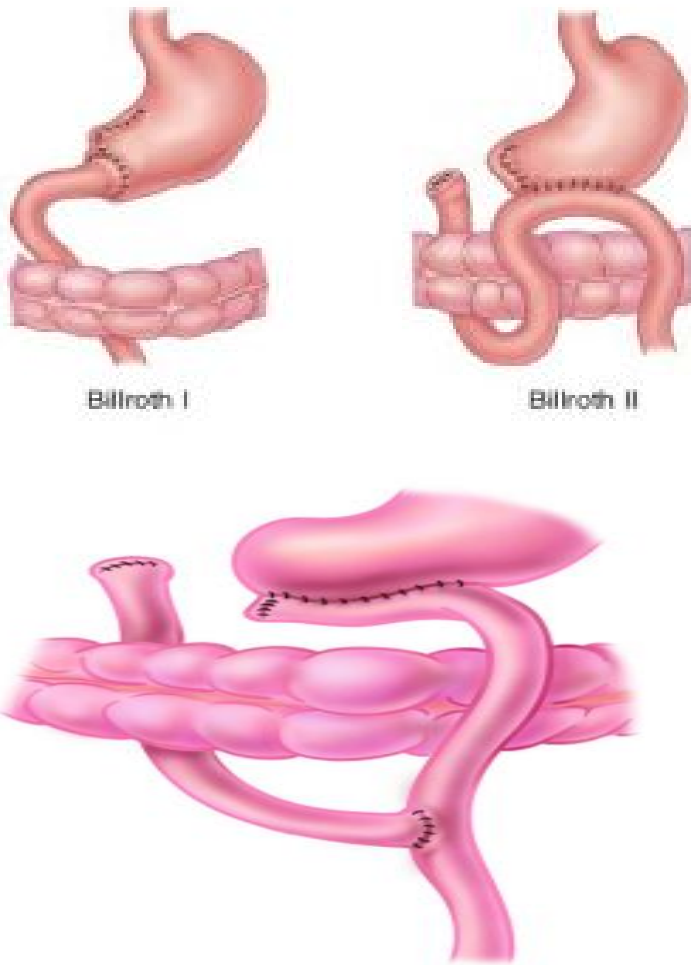
Από το 1982 έως το 1993 ο Bozzetti και συν. [54] σχεδίασαν μια μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη συγκρίνοντας τα αποτελέσματα μετά από υφολική και ολική γαστρεκτομή. Εξακόσιοι εικοσιτέσσερις ασθενείς έλαβαν μέρος στη μελέτη αυτή. Τριακόσιοι είκοσι ασθενείς υπεβλήθησαν σε υφολική γαστρεκτομή, ενώ 304 ασθενείς υπεβλήθησαν σε ολική γαστρεκτομή [οι δύο ομάδες ασθενών ήταν ομοιογενείς όσον αφορά ηλικία (> 60 ετών), εντόπιση όγκου (όλοι οι ασθενείς είχαν όγκους μέσου και κάτω τριτημορίου του στομάχου), διαστάσεις νεοπλασματος, ιστότυπος όγκου και τύπος εκτομής] . Όλοι οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε D2 λεμφαδενεκτομή (δηλαδή πλην της αφαίρεσης των N1 λεμφαδένων, αφαιρούνταν και οι λεμφαδένες της δεύτερης ομάδας γύρω από τον τρίποδα του Haller (σταθμός 7: αριστερής γαστρικής αρτηρίας, σταθμός 8: κοινή ηπατική αρτηρία, σταθμός 9: κοιλιακή αρτηρία) και κατά μήκος της σπληνικής αρτηρίας (σταθμός 11), μέχρι και τις πύλες του σπλήνα (σταθμός 10), η σπληνεκτομή ήταν προαιρετική και τα 6 εκ. ελεύθερα όρια ήταν ο στόχος [54]. Το συμπέρασμα ήταν πως παρόλο που η περιεγχειρητική θνητότητα δεν διέφερε (1.3% vs 2.3%, $p=0.27$), η νοσηρότητα ήταν πιο υψηλή στην ομάδα της ολικής γαστρεκτομής (15.5% vs 10.3%, $p=0.05$). Επίσης, ο μέσος όρος μετεγχειρητικής νοσηλείας ήταν μικρότερος στην ομάδα της υφολικής γαστρεκτομής (13.8 ημέρες vs 15.4 ημέρες, $p < 0.001$). Το πιο σημαντικό σημείο της μεγάλης αυτής μελέτης ήταν ότι τα ποσοστά 5-ετούς επιβίωσης μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών ήταν παρόμοια (65.3% vs 62.4%) [54].

Αξίζει να σημειωθεί ότι το κυριότερο πλεονέκτημα υπέρ της υφολικής γαστρεκτομής σε σχέση με την ολική γαστρεκτομή είναι αναμφίβολα η επίδραση στην ποιότητα ζωής των ασθενών. Πρόσφατα, ο Karanicolos και συν. [58] ανέλυσαν προοπτικά 134 ασθενείς που υπεβλήθησαν σε γαστρεκτομή. Από αυτούς, 82 ασθενείς υπεβλήθησαν σε υφολική γαστρεκτομή, 16 σε ανάστροφη και 36 σε ολική γαστρεκτομή. Στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο, 55% των ασθενών ανέφεραν σημαντικά προβλήματα που επηρέαζαν την ποιότητα της ζωής τους μετά από εγγύς και ολική γαστρεκτομή [58]. Επιπλέον, ο Davies και συν.[59] αξιολόγησαν 47 συνεχόμενους ασθενείς που υπεβλήθησαν σε R0 εκτομή για γαστρικό καρκίνο. Ολική γαστρεκτομή έλαβαν 26 ασθενείς και υφολική γαστρεκτομή 21 ασθενείς. Όλοι οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε εκτεταμένη D2 λεμφαδενεκτομή, ενώ ο σπλήνας και το

πάγκρεας αφαιρούνταν μόνο όταν υπήρχε διήθηση κατ'επέκταση ιστού. Η ποιότητα ζωής των ασθενών αξιολογήθηκε προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά τον πρώτο, τρίτο, έκτο και δωδέκατο μήνα μέσα από εκτεταμένα ερωτηματολόγια. Τα αποτελέσματα ήταν πολύ καλύτερα για την ομάδα της υφολικής γαστρεκτομής.

Οι αναφερθείσες μελέτες αποτελούν σημαντικό σταθμό όσον αφορά την ποιότητα ζωής των γαστρεκτομηθέντων. Παρατηρείται αναμφίβολα υψηλότερη περιεγχειρητική νοσηρότητα και θνητότητα σε ασθενείς που υποβάλλονται σε ολική γαστρεκτομή. Επιπλέον, αναμφίβολα, η ποιότητα ζωής των ασθενών είναι καλύτερη στους ασθενείς μετά από υφολική γαστρεκτομή. Για αυτούς τους λόγους, όταν είναι εφικτά τα όρια κεντρικά του όγκου των 6-7 εκ. για περιφερικούς καρκίνους στομάχου, η 'σωστή' χειρουργική επιλογή πρέπει να είναι η υφολική γαστρεκτομή [58,59].

Όσον αφορά την επιλογή της αποκατάστασης μετά από την υφολική γαστρεκτομή οι επιλογές είναι: αποκατάσταση κατά Roux-en-Y, Billroth II αποκατάσταση και Billroth I αποκατάσταση (εικόνα 3.2.1.1).



ΕΙΚΟΝΑ 3.2.1.1: Αποκατάσταση μετά από υφολική γαστρεκτομή (Billroth I, Billroth II, Roux en Y)

Έχει παρατηρηθεί ότι μετά από Roux-en-Y αποκατάσταση δεν υπάρχει αλκαλική γαστρίτιδα ούτε έχει παρατηρηθεί αναστομωτικός καρκίνος. Ο Ishikawa και συν. [60] τυχαιοποίησε 50 ασθενείς με περιφερικό γαστρικό καρκίνο. Αλκαλική γαστρίτιδα 6 μήνες μετά το χειρουργείο παρουσίασαν κατά συντριπτική πλειοψηφία οι ασθενείς που υπεβλήθησαν σε Billroth I ή II γαστρεκτομή.

Σε μια πολύ σημαντική μετά-ανάλυση που έγινε από τον Zong και συν. [61] συμπεριελήφθησαν 15 μελέτες όπου συνέκριναν Billroth I vs. Billroth II vs. Roux-en-Y χειρουργικές αποκαταστάσεις μετά από υφολική γαστρεκτομή. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αποκατάσταση κατά Roux-en-Y μειώνει στατιστικά σημαντικά τον κίνδυνο αλκαλικής παλινδρόμησης και τα ποσοστά μετεγχειρητικής αλκαλικής γαστρίτιδας. Επιπρόσθετα, η ποιότητα ζωής των ασθενών μετά από Roux-

en-Y αποκατάσταση αποδείχθηκε στατιστικά σημαντικά βελτιωμένη σε σχέση με τους ασθενείς που αποκαταστήθηκαν χειρουργικά με Billroth I η Billroth II [61].

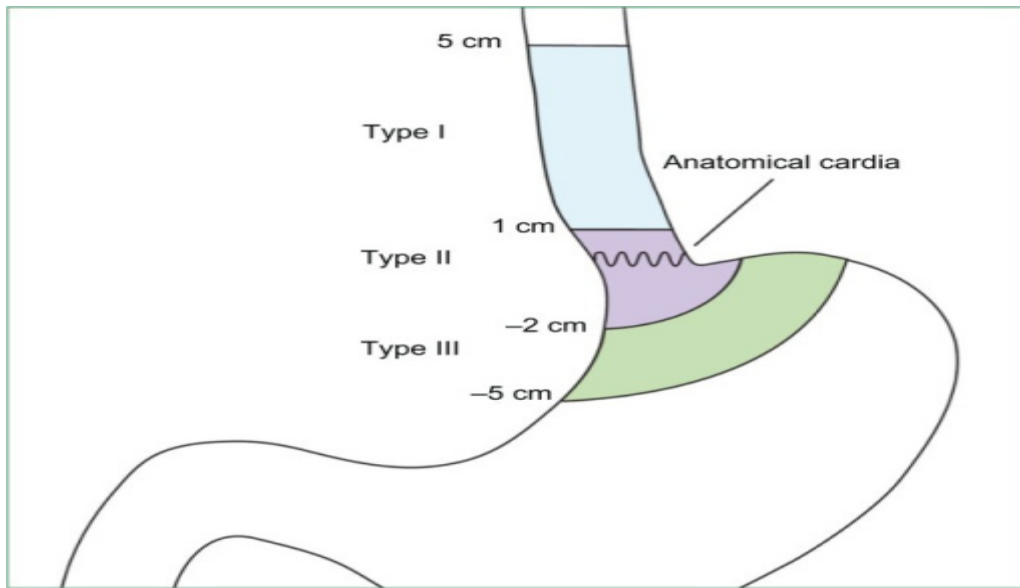
-Εγγύς Νόσος (όγκοι άνω τριτημορίου στομάχου: καρδία, θόλος)

Όσον αφορά την καλύτερη αποκατάσταση για καρκίνους στο εγγύς τμήμα του στομάχου υπάρχουν πολύ λίγες ποιοτικές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία. Οι επιλογές είναι η εγγύς-ανάστροφη γαστρεκτομή και η ολική γαστρεκτομή. Οι λίγες μελέτες που υπάρχουν αναδεικνύουν υψηλότερη συχνότητα επιπλοκών (στένωση αναστόμωσης και αλκαλική οισοφαγίτιδα) και καρκινική υποτροπή μετά από την ανάστροφη γαστρεκτομή [62]. Μια πολύ σημαντική μη τυχαιοποιημένη Νορβηγική μελέτη με 763 ασθενείς ανέδειξε υψηλότερα ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας μετά από εγγύ γαστρεκτομή (52% and 16%) σε σχέση με την ολική γαστρεκτομή (38% and 8%). Πολύ σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν επίσης σχετικά με τα ποσοστά αναστομωτικών στενώσεων (6.9% vs. 1.8%) και αλκαλικής οισοφαγίτιδας (38.2% vs. 29.2%) [62].

Αξίζει να σημειωθεί λοιπόν ότι η επέμβαση εκλογής σε περιπτώσεις ασθενών με εγγύς καρκίνους είναι η ολική γαστρεκτομή με Roux-en-Y οισοφαγοηστιδική αναστόμωση [63].

-Καρκίνοι Γαστροοισοφαγικής Συμβολής

Η αντιμετώπιση ασθενών με καρκίνους γαστροοισοφαγικής συμβολής (ΓΟΣ) αποτελεί ακόμη και σήμερα αντικείμενο επιστημονικής συζήτησης. Υπάρχουν ακόμη διαφωνίες όσον αφορά την ταξινόμηση και την επιλογή της κατάλληλης χειρουργικής προσέγγισης. Πρέπει να σημειωθεί ότι η ταξινόμηση των καρκίνων της γαστροοισοφαγικής συμβολής κατά Siewert σε τρεις τύπους αποτελεί την πυξίδα για τη σωστή επιλογή της χειρουργικής παρέμβασης [64]. Ο τύπος I περιλαμβάνει αληθή καρκινώματα του οισοφάγου που επεκτείνονται προς την ΓΟΣ και οι ασθενείς υποβάλλονται σε διαθωρακική en block οισοφαγεκτομή με εκτεταμένη λεμφαδενεκτομή. Ο τύπος II περιλαμβάνει όγκους της περιοχής της ΓΟΣ , σε απόσταση μέχρι 2cm άνωθεν ή κάτωθεν από την συμβολή των επιθηλίων. Τέλος, ο τύπος III περιλαμβάνει όγκους της καρδιακής μοίρας (εικόνα 3.2.1.2).



ΕΙΚΟΝΑ 3.2.1.2: Ταξινόμηση κατά Siewert

Οι δυο τελευταίοι τύποι μπορούν να αφαιρεθούν με εκτεταμένη ολική γαστρεκτομή, με διατηρηματική εκτομή του περιφερικού οισοφάγου [64].

Όσον αφορά σημαντικές μελέτες, πρέπει να αναφερθεί μια αναδρομική ανάλυση που συμπεριέλαβε 505 ασθενείς με καρκίνο ΓΟΣ που διενεργήθηκε στο Sloan Kettering Cancer Center της Νέας Υόρκης [65]. Σύμφωνα με αυτή τη μελέτη σε ασθενείς με καρκίνο ΓΟΣ, το χειρουργικό όριο κεντρικά του όγκου τουλάχιστον 5 εκ. και η εκτομή τουλάχιστον 15 λεμφαδένων είναι απαραίτητη για την καλύτερη πρόγνωση των ασθενών. Σύμφωνα με αυτά τα στοιχεία, μια συνδυασμένη θωρακοκοιλιακή προσέγγιση (κατά Ivor Lewis) πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για Seewert II and III καρκίνους ΓΟΣ με σκοπό την ‘εγγυημένη’ επάρκεια ασφαλών χειρουργικών ορίων και ριζικής λεμφαδεκτομής [65].

Επιπρόσθετα, σε μια πρόσφατη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας ο Uzunoglu και συν. [66] συμπέραναν ότι σε τύπους III καρκίνους ΓΟΣ, η διατηρηματική εκτεταμένη γαστρεκτομή πρέπει να είναι η standard θεραπευτική προσέγγιση. Ανεξάρτητα από αυτό, οι συγγραφείς συμπεραίνουν ότι δεν υπάρχουν τυχαίοποιημένες μελέτες που να συγκρίνουν την διατηρηματική εκτεταμένη γαστρεκτομή με την δεξιά θωρακοκοιλιακή προσέγγιση [66].

-Εκτομή παρακείμενων οργάνων

Παρόλο που η διήθηση κατά συνέχεια ιστού του σπληνός και του περιφερικού παγκρέατος, από γαστρικά νεοπλάσματα, απαιτεί εκτομή για να επιτευχθεί R0 εκτομή, η σπληνεκτομή και η περιφερική παγκρεατεκτομή ως ρουτίνα στην διενέργεια D2 λεμφαδενεκτομής προσθέτει σημαντική νοσηρότητα και δεν έχει αποδειχτεί να προσφέρει σημαντικό όφελος στην επιβίωση των ασθενών αυτών. Η πιο σημαντική μελέτη κατά της σπληνεκτομής δημοσιεύθηκε από τον Yu και συν [67]. Πρόκειται για μια μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη 207 ασθενών που υπεβλήθησαν σε ολική γαστρεκτομή για εγγύ γαστρικό αδενοκαρκίνωμα. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν να υποβληθούν ή όχι σε σπληνεκτομή. Οι δύο ομάδες ασθενών είχαν παρόμοια ποσοστά περιεγχειρητικής νοσηρότητας, θνητότητας, μετεγχειρητικής νοσηλείας, αριθμό εξαιρεθέντων λεμφαδένων. Το πιο σημαντικό στοιχείο είναι ότι παρατηρήθηκαν παρόμοια ποσοστά πενταετούς επιβίωσης (54.8% vs 48.8%, $p=0.503$). Οι συγγραφείς συμπέραναν ότι δεν συνιστάται η σπληνεκτομή ρουτίνας στις περιπτώσεις που δεν υπάρχει διήθηση κατ' επέκταση ιστού [67].

Επιπλέον, συνιστάται η 'επιθετική' εκτομή παρακείμενων οργάνων σε ασθενείς με T4b καρκινώματα, αν και πολλές φορές σε τέτοιες περιπτώσεις η θεραπευτική εκτομή δεν είναι εφικτή. Η εκτομή παρακείμενων οργάνων αφορά τον σπλήνα, το πάγκρεας, το κόλον, και τον αριστερό λοβό του ήπατος. Οι μελέτες υποστηρίζουν ότι η εκτεταμένη εκτομή που περιλαμβάνει παρακείμενα όργανα μπορεί να προσφέρει πιθανότητες επιβίωσης στον ασθενή μόνο όταν επιτυγχάνεται R0 εκτομή και δεν υπάρχει εμφανής λεμφαδενική εμπλοκή [68].

-Ο Ρόλος του Λεμφαδενικού καθαρισμού

Στη Χειρουργική Ογκολογία, η λεμφαδενεκτομή έχει τρεις κύριους στόχους: σταδιοποίηση της νόσου, πρόληψη τοπικοπεριοχικής υποτροπής, και βελτίωση της συνολικής επιβίωσης των ασθενών. Είναι ευρέως αποδεκτό σήμερα ότι η εκτεταμένη λεμφαδενεκτομή για τον καρκίνο στομάχου οδηγεί αν μη τι άλλο σε καλύτερη σταδιοποίηση της νόσου [69,70]. Για του λόγου το αληθές αξίζει να σημειωθεί ότι πλέον, σύμφωνα με την 7η έκδοση της American Joint Committee on Cancer AJCC/UICC TNM

staging system για το αδενοκαρκίνωμα στομάχου, συστήνεται ότι τουλάχιστον 16 λεμφαδένες πρέπει να αφαιρούνται έτσι ώστε να υπάρχει σωστή N σταδιοποίηση [70,71].

Όπως προκύπτει από τη διεθνή βιβλιογραφία, η χειρουργική εκτομή με υγιή μικροσκοπικά και μακροσκοπικά όρια (R0 εκτομή) αποτελεί αδιαμφισβήτητη τη θεραπεία εκλογής στον καρκίνο του στομάχου. Σήμερα φαίνεται ότι η κατάσταση στην Παγκόσμια Επιστημονική Κοινότητα έχει διαλευκανθεί και σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες [72], η εκτεταμένη D2 λεμφαδενεκτομή συνιστάται πλέον ανεπιφύλακτα στην χειρουργική θεραπεία του καρκίνου του στομάχου, όταν συνοδεύεται από χαμηλή μετεγχειρητική θνητότητα.

Όμως η ‘ομοφωνία’ όσον αφορά τη έκταση της λεμφαδενεκτομής στον καρκίνο του στομάχου αποτέλεσε ένα χειρουργικό θέμα αιχμής τις τελευταίες δεκαετίες αφού υπήρχαν σημαντικές διαφωνίες ανάμεσα στους επιστήμονες της Ανατολής και της Δύσης [73].

Σύμφωνα με τις οδηγίες της Ιαπωνικής ερευνητικής εταιρίας για τη μελέτη του γαστρικού καρκίνου, οι λεμφαδένες της ανώτερης κοιλιακής χώρας ταξινομούνται σε 4 ομάδες (N1-N4/16 λεμφαδενικοί σταθμοί), η κάθε μία από τις οποίες σχετίζεται με την προοδευτικά αυξανόμενη απόσταση από το στομάχι [74]. Έτσι λοιπόν ως D1 λεμφαδενεκτομή ορίζεται η αφαίρεση των περιγαστρικών εφαιπτόμενων με το στομάχι λεμφαδένων κατά μήκος του ελάσσονος (σταθμοί 1,3,5) και μείζονος τόξου (σταθμοί 2,4,6) (σταθμοί 1-6:N1 ομάδα) και επιτυγχάνεται με υφολική ή ολική γαστρεκτομή και εκτομή του επιπλόου (εικόνα 3.2.1.3) [75]. Στην εκτεταμένη D2 λεμφαδενεκτομή, πλην της αφαίρεσης των N1 λεμφαδένων, αφαιρούνται και οι λεμφαδένες της δεύτερης ομάδας γύρω από τον τρίποδα του Haller (σταθμός 7: αριστερής γαστρικής αρτηρίας, σταθμός 8: κοινή ηπατική αρτηρία, σταθμός 9: κοιλιακή αρτηρία) και κατά μήκος της σπληνικής αρτηρίας (σταθμός 11), μέχρι και τις πύλες του σπλήνα (σταθμός 10) (εικόνα 3.2.1.3) [76]. Εκτομή των πιο απομακρυσμένων λεμφαδενικών σταθμών 13-16 χαρακτηρίζονται ως D3 και D4 λεμφαδενεκτομή (εικόνα 3.2.1.3) [77]. Σύμφωνα με σημαντικές μελέτες, ο ρόλος του λεμφαδενικού καθαρισμού στον καρκίνο του στομάχου είναι μείζονος σημασίας, όσον αναφορά τη σωστή σταδιοποίηση της νόσου, την πρόληψη της τοπικοπεριοχικής υποτροπής και τη βελτίωση της συνολικής επιβίωσης [77-79]. Το θέμα της έκτασης

της λεμφαδενεκτομής αποτέλεσε μέχρι και πρόσφατα θέμα επιστημονικής συζήτησης παγκοσμίως. Σε μια χαρακτηριστική συγκριτική μελέτη που προέρχεται από τη Γερμανία, διαπιστώθηκε ότι η πενταετής επιβίωση διέφερε σημαντικά ιδιαίτερα σε ασθενείς σταδίου II (T1, N2; T2, N1; T3, N0) (55% D2 vs 27% D1). Τα αποτελέσματα αυτά καθώς και η συχνή ύπαρξη μικρομεταστάσεων σε N0 περιπτώσεις, ενίσχυσαν την εφαρμογή της D2 λεμφαδενεκτομής στη χώρα αυτή [78].

Στην Ιταλία σε συγκριτική μελέτη 350 ασθενών βρέθηκε παρόμοια νοσηρότητα και θνητότητα ανάμεσα στις 2 ομάδες ασθενών, ενώ η πενταετής επιβίωση ήταν 65% για την D2 εκτομή, έναντι του 50% για την D1 εκτομή ($p=0,01$) (85.9 vs 82.2% για στάδιο νόσου I ($P=0.60$), 66.1 vs 57.8% για στάδιο νόσου II ($P=0.82$) και 48.7 vs 29.8% για στάδιο νόσου III ($P=0.02$) [79]. Στην Τουρκία ο Vildirim και συν. [80], αναφέρουν μετά από D2 λεμφαδενεκτομή θνητότητα 4%, νοσηρότητα 28% και πενταετή επιβίωση 39%, πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα για να συστήνουν την εφαρμογή της ως μέθοδο εκλογής στην γειτονική μας χώρα. Αντίθετα στη Βρετανία μερικά χρόνια πριν σε μια μεγάλη συγκριτική μελέτη 400 ασθενών δεν εμφανίστηκε σημαντική διαφορά στη επιβίωση. Από την πολυπαραγοντική ανάλυση αυτής της μελέτης φάνηκε ότι το στάδιο νόσου II και III, η προχωρημένη ηλικία, και η διενέργεια σπληνεκτομής και περιφερικής παγκρεατεκτομής ήταν ανεξάρτητα συνδεδεμένα με φτωχή επιβίωση των ασθενών. Η αυξημένη θνητότητα και νοσηρότητα στις D2 εκτομές οδήγησαν τους συγγραφείς να μη συστήνουν την εφαρμογή αυτής της μεθόδου [81]. Παρόμοια σε μια πολυκεντρική τυχαιοποιημένη συγκριτική μελέτη από την Ολλανδία, βρέθηκε παρόμοιο ποσοστό επιβίωσης και αυξημένο ποσοστό νοσηρότητας και θνητότητας στην D2 εκτομή που σχετιζόταν στατιστικά σημαντικά και με τη διενέργεια σπληνεκτομής και περιφερικής παγκρεατεκτομής [82].

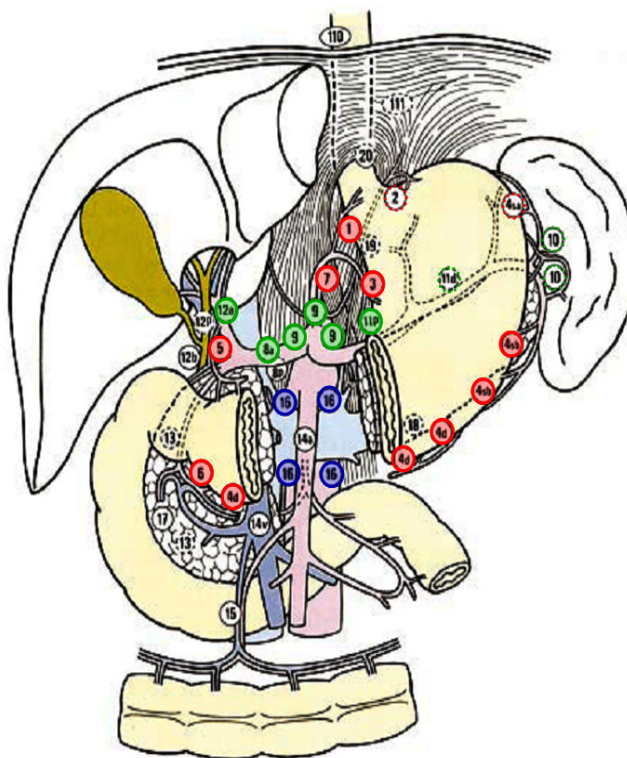
Πρόσφατα όμως, σε συγκριτικές μελέτες προερχόμενες από την Ιταλία και την Αγγλία μεταξύ της D1 και της τροποποιημένης D2 εκτομής (χωρίς σπληνεκτομή και περιφερική παγκρεατεκτομή), τα αποτελέσματα είναι αδιαμφισβήτητα υπέρ της τροποποιημένης D2 γαστρεκτομής στον καρκίνο του στομάχου [83,84]. Στις χώρες της Άπω Ανατολής εδώ και πολλά χρόνια, η επέμβαση εκλογής για τον καρκίνο του στομάχου θεωρείται η D2 γαστρεκτομή. Τα πολύ καλά αποτελέσματα δεν επιτρέπουν πλέον τον σχεδιασμό συγκριτικών μελετών μεταξύ των D1 και D2 λεμφαδενεκτομών [85].

Είναι επίσης αξιοσημείωτο το γεγονός ότι σε μια πολύ μεγάλη μελέτη-ορόσημο που δημοσιεύτηκε το 2010 από τον Songun και συν. [86], φάνηκε να υπάρχει σημαντικά υψηλότερη συνολική επιβίωση μετά από D2 εκτομή σε γυναίκες ασθενείς, σε ασθενείς σταδίου II και σε ασθενείς με νόσο N2. Φαίνεται λοιπόν ότι η εκτεταμένη λεμφαδενεκτομή έχει σίγουρα όφελος, όσον αφορά την καλύτερη σταδιοποίηση (είναι πλέον απαραίτητη η εκτομή 16 λεμφαδένων και άνω για τη σωστή σταδιοποίηση N ασθενών με αδενοκαρκίνωμα στομάχου), τον καλύτερο τοπικοπεριοχικό έλεγχο της νόσου και αν γίνεται με χαμηλή νοσηρότητα και θνητότητα, τότε φαίνεται να υπάρχει όφελος και στη συνολική επιβίωση [86].

Σε αυτό το σημείο είναι σημαντικό να καθοριστεί με ακρίβεια η τροποποιημένη D2 λεμφαδενεκτομή η οποία συνιστάται σήμερα στη χειρουργική αντιμετώπιση του αδενοκαρκινώματος στομάχου: συνιστάται στην εκτομή του πρόσθιου πέταλου του εγκάρσιου μεσόκολου, εκτομή σταθμών 1-6, εκτομή σταθμών 7,8,9, εκτομή σταθμού 11 (σπληνικής αρτηρίας), και εκτομή σταθμού 12α (δεξιάς γαστρικής αρτηρίας). Η εκτομή περιλαμβάνει το σπλήνα, το περιφερικό πάγκρεας και το σταθμό 10 (σταθμός πύλης σπληνός) μόνο και εφόσον υπάρχει διήθηση κατ'επέκταση ιστού (εικόνα 3.2.1.3) [87].

Κρίθηκε επίσης σημαντικό από τους ερευνητές να ελεγχθεί εάν οι πιο εκτεταμένες από την D2 εκτομές μπορούν να προσφέρουν όφελος στην επιβίωση των ασθενών. Γι' αυτό το λόγο διενεργήθηκε μια μεγάλη Ιαπωνική τυχαιοποιημένη προοπτική μελέτη σε 523 ασθενείς συγκρίνοντας την D2 λεμφαδενεκτομή με την πιο εκτεταμένη D2 λεμφαδενεκτομή με επιπρόσθετη παρααορτική (σταθμός 16) εκτομή (D3 – D4 PAND) [88].

Το πιο σημαντικό αποτέλεσμα αυτής της μελέτης ήταν ότι τα ποσοστά συνολικής επιβίωσης ήταν 69.2% vs 70.3% και τα ποσοστά επιβίωσης χωρίς υποτροπή ήταν 62.6% vs 61.7% μεταξύ των δύο τυχαιοποιημένων ομάδων ασθενών [88]. Μετά από αυτή τη μελέτη, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η παρααορτική λεμφαδενεκτομή δεν συνιστάται στην αντιμετώπιση του αδενοκαρκινώματος στομάχου.



Εικόνα 3.2.1.3. Οι κύκλοι αναδεικνύουν τους λεμφαδενικούς σταθμούς όπως ορίζονται από την Ιαπωνική Εταιρία Καρκίνου Στομάχου (Japanese Gastric Cancer Association). Οι χρωματιστοί κύκλοι αντιπροσωπεύουν τους σταθμούς που πρέπει να εκταμούν χειρουργικά. Τα διαφορετικά χρώματα αναδεικνύουν τα διαφορετικά επίπεδα εκτομής. Οι κόκκινοι σταθμοί αντιπροσωπεύουν την D1 εκτομή, οι πράσινοι σταθμοί αντιπροσωπεύουν την D2 εκτομή, και οι μπλε σταθμοί πρέπει να εκτέμνονται στην παρααορτική λεμφαδεκτομή. Από Rausei S et al [87].

Συνοψίζοντας, αυτό που ισχύει σήμερα σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες:

Επί απουσίας μεταστατικής διασποράς (δηλαδή για όλα τα στάδια εκτός του σταδίου IV), η χειρουργική αφαίρεση παραμένει η καλύτερη επιλογή για τη θεραπεία του καρκίνου του στομάχου, καθώς είναι η μόνη θεραπεία με σκοπό την ίαση. Για ασθενείς με καρκίνο του στομάχου η ευρεία εξαίρεση του όγκου (μη διηθημένα μικροσκοπικά ή μακροσκοπικά όρια- R0 εκτομή) και ο ριζικός λεμφαδενικός καθαρισμός δίνει την καλύτερη πιθανότητα για μακροχρόνια επιβίωση [89]. Τυπικά, συνιστάται η αφαίρεση να γίνεται με περίπου 6cm μακροσκοπικά όρια εκτομής, κεντρικά του όγκου, για το εντερικού τύπου αδενοκαρκίνωμα στομάχου και 8-10cm για το διάχυτου τύπου αδενοκαρκίνωμα στομάχου. Σε περιπτώσεις που τα όρια εκτομής είναι μικροσκοπικά (R1) ή μακροσκοπικά (R2) διηθημένα, τότε τα ποσοστά υποτροπής είναι αυξημένα και η επιβίωση μειώνεται σημαντικά [90].

Κριτήρια μη εξαιρεσιμότητας του όγκου είναι τα ακόλουθα: η ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων (στάδιο IV), η διήθηση μεγάλων αγγειακών δομών και η επέκταση του όγκου στην ηπατική αρτηρία ή στην κοιλιακή αρτηρία, με τέτοιον τρόπο ώστε να καθιστά αδύνατη την πλήρη εκτομή του [91]. Όλοι οι υπόλοιποι ασθενείς θεωρούνται πιθανοί υποψήφιοι για να υποβληθούν σε χειρουργική εξαίρεση του όγκου. Η ύπαρξη πολλαπλών διηθημένων λεμφαδένων στην γειτονική περιοχή του όγκου δεν θα πρέπει να θεωρείται κριτήριο μη εξαιρεσιμότητας του όγκου. Για όγκους της εγγύς μοίρας του στομάχου, οι οποίοι αποτελούν ως και το 50% του συνόλου του καρκίνου του στομάχου, απαιτείται διαφορετική προσέγγιση όσον αφορά στην εκτομή και την αποκατάσταση της συνέχειας του ανώτερου πεπτικού. Οι όγκοι της μεσότητας του στομάχου αποτελούν το 15-30% όλων των γαστρικών καρκίνων και η ολική γαστρεκτομή είναι η επέμβαση εκλογής (σε ορισμένες περιπτώσεις εντερικού τύπου και όταν πληρούνται τα όρια εκτομής διενεργείται και η σχεδόν ολική γαστρεκτομή). Μετά από ολική γαστρεκτομή, η μέθοδος εκλογής αποκατάστασης της συνέχειας του ανωτέρου πεπτικού σωλήνα είναι η Roux-en Y οισοφαγονησιδική αναστόμωση. Οι όγκοι της περιφερικής μοίρας του στομάχου αποτελούν περίπου το 35% των γαστρικών καρκίνων. Γενικά, η υφολική γαστρεκτομή προτιμάται όποτε αυτό είναι εφικτό [92]. Μετά από περιφερική υφολική γαστρεκτομή, οι εναλλακτικές επιλογές για την αποκατάσταση της συνέχειας του ανωτέρου πεπτικού σωλήνα είναι: η γαστροεντεροαναστόμωση κατά Billroth I, η γαστρονησιδική αναστόμωση κατά Billroth II και η Roux- en Y γαστρονησιδική αναστόμωση (είτε εμπροσθοκολικά είτε οπισθοκολικά). Γενικά η Roux- en-Y γαστρονησιδική αναστόμωση είναι η πλέον χρησιμοποιούμενη και πλεονεκτεί σε σχέση με τις υπόλοιπες τεχνικές στον έλεγχο των συνδρόμων μετά γαστρεκτομή. Η ενδοσκοπική εκτομή του βλεννογόνου (Endoscopic Mucosal Resection- EMR) χρησιμοποιείται ιδιαίτερα στην Ιαπωνία, όπου σχεδόν το 50% των ασθενών διαγιγνώσκονται με πρώιμο γαστρικό καρκίνο, ως αποτέλεσμα του εκτεταμένου προληπτικού ελέγχου για τη νόσο. Σε περίπτωση εφαρμογής της EMR, το παρασκεύασμα πρέπει να εξεταστεί λεπτομερώς για να εξακριβωθεί η ύπαρξη ή μη της διήθησης του υποβλεννογονίου χιτώνα [93]. Αν ο τελευταίος είναι διηθημένος, η πιθανότητα λεμφαδενικής διήθησης είναι μεγάλη και επομένως πρέπει να γίνει γαστρεκτομή. Η προσέγγιση αυτή έχει περιορισμένη χρήση στο δυτικό κόσμο. Όσον αφορά τη λεμφαδενεκτομή φαίνεται να έχει ξεκαθαρίσει πλέον το 'τοπίο' αφού η D2 τροποποιημένη λεμφαδενεκτομή με διατήρηση του σπληνός

αποτελεί σήμερα μέρος των κατευθυντήριων οδηγιών για την αντιμετώπιση του καρκίνου του στομάχου και στην Ευρώπη [87,94].

3.2.2 Χημειοθεραπεία-Ακτινοθεραπεία

Σήμερα στις Δυτικές Χώρες περισσότεροι από τους μισούς ασθενείς με καρκίνο στομάχου διαγιγνώσκονται σε προχωρημένο στάδιο. Σε αυτούς τους ασθενείς με τοπικά προχωρημένο καρκίνο στομάχου (LAGC-Locally Advanced Gastric Cancer) μόνη της η χειρουργική επέμβαση δεν αποτελεί σήμερα τη μέθοδο εκλογής [95]. Για το λόγο αυτό αν και η εκτεταμένη λεμφαδενεκτομή βελτίωσε τα αποτελέσματα της χειρουργικής εκτομής για τον καρκίνο του στομάχου και αν και νέα επαρκή μετεγχειρητικά χημειοθεραπευτικά σχήματα έχουν κυκλοφορήσει, η πρόγνωση των ασθενών με προχωρημένη νόσο (T3-T4 ή N+) παραμένει πολύ κακή και ευρέως μη αποδεκτή [96].

Οι Ιαπωνικές κατευθυντήριες οδηγίες διαφέρουν από τις Ευρωπαϊκές και Αμερικάνικες Οδηγίες (National Comprehensive Cancer Network [NCCN]) [72]. Όσον αφορά την επικουρική χημειοθεραπεία, το σχήμα S-1 (αντικαρκινικό ‘σχήμα’ που αποτελείται από tegafur (FT)-πρόδρομο φάρμακο της 5-FU, 5-chloro-2, 4-dihydroxypyridine (gimestat[CDHP]), και oteracil potassium (Oxo) σε σχέση 1 : 0.4 : 1) συστήνεται στην Ιαπωνία σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου σταδίου II ή III μετά από εκτεταμένη D2 γαστρεκτομή. Και αυτό γιατί στη μεγάλη ACTS-GC μελέτη, οι ασθενείς που έλαβαν S-1 είχαν στατιστικά σημαντικά καλύτερα ποσοστά επιβίωσης σε σχέση με τους ασθενείς που υπεβλήθησαν μόνο σε χειρουργική εκτομή [97].

Στις Δυτικές Χώρες μόνη της η χειρουργική επέμβαση θεωρείται ανεπαρκής για τους περισσότερους ασθενείς. Γι’ αυτό το λόγο συνιστάται σύμφωνα και με τα αποτελέσματα της γνωστής μελέτης MAGIC, περιεγχειρητική χημειοθεραπεία με επιρουμπικίνη, πλατίνη και φλουοροουρακίλη ή ανάλογά τους για τους ασθενείς με T2,T3,T4 όγκους ή με διηθημένους λεμφαδένες [98]. Επιπρόσθετα, η προεγχειρητική χημειο-ακτινοθεραπεία θα πρέπει να αξιολογείται για αυτούς τους ασθενείς. Παράλληλα, για τους ασθενείς που δεν έχουν λάβει προεγχειρητική θεραπεία, η μετεγχειρητική χημειο-ακτινοθεραπεία (5-φλουοροουρακίλη ± λευκοβορίνη ή καπεκιταμπίνη πριν και μετά από χημειο-ακτινοθεραπεία βασισμένη σε φλουοροπυριμιδίνη) συνιστάται για επιλεγμένους

ασθενείς (T3 και T4, κάθε N και T2N0 ασθενείς με χαμηλής διαφοροποίησης καρκίνους, με λεμφαγγειακή διήθηση, περινευρική διήθηση και ηλικίας κάτω των 50 ετών) [72]. Επιπρόσθετα, με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης CLASSIC στην Ανατολή, η μετεγχειρητική χημειοθεραπεία με καπεσιταμίνη (Capecitabine) και οξαλιπλατίνη (Oxaliplatin) συνιστάται μετά από D2 γαστρεκτομή σε ασθενείς με T3, T4 και κάθε N θετικό όγκο [99]. Όσον αφορά μεταστατικούς (M1) ή μη εξαιρεσίμους όγκους, θεραπευτικά σχήματα με δοξετακίλη, cis-πλατίνα και φλουοροουρακίλη ή αναλογά τους συνιστώνται από τις Αμερικάνικες κατευθυντήριες οδηγίες (NCCN) [72], ενώ στην Ιαπωνία το σχήμα S-1 με επιπλέον χορήγηση cis-πλατίνας χρησιμοποιείται ευρέως [97]. Επιπλέον, το μονοκλωνικό αντίσωμα Trastuzumab (Herceptin) με ενεργά χημειοθεραπευτικά σχήματα χρησιμοποιούνται για τους ασθενείς που είναι Her-2 θετικοί [72,100].

ΠΡΟΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η προεγχειρητική χημειοθεραπεία χορηγείται με σκοπό την ‘μείωση’ της νόσου (downstaging), ώστε να μπορέσει ο ασθενής να υποβληθεί στη συνέχεια σε μια ριζική χειρουργική εκτομή. Έχει χρησιμοποιηθεί αυτή η μέθοδος σε ασθενείς που θεωρούνται ότι έχουν μη εξαιρεσίμη αλλά μη μεταστατική νόσο (τοπικά προχωρημένη νόσο). Σήμερα η προεγχειρητική χημειοθεραπεία στον καρκίνο του στομάχου χρησιμοποιείται για τους ασθενείς που έχουν τοπικά προχωρημένο γαστρικό καρκίνο (T3-T4 ή N+). Η μέθοδος αυτή έχει το πλεονέκτημα ότι οι ασθενείς αυτοί είναι πιο πιθανό να υποβληθούν σε ένα πιο ριζικό χειρουργείο αν μετά το πέρας της θεραπείας η νόσος τους δείχνει ανταπόκριση ή μπορούν να αποφύγουν την θνητότητα και τη νοσηρότητα ενός χειρουργείου αν μετά το πέρας της προεγχειρητικής χημειοθεραπείας δεν έχει παρουσιάσει βελτίωση της νόσου ή έχουν εμφανιστεί μεταστάσεις [101,102]. Αναλυτικά στοιχεία για το όφελος της προεγχειρητικής χημειοθεραπείας στους όγκους της καρδιοισοφαγικής συμβολής παρατίθενται παρακάτω.

3.2.3 Παρηγορική Θεραπεία

Υπάρχουν αρκετές παρηγορικές τεχνικές και προσεγγίσεις για τους ασθενείς που το στάδιο της νόσου τους δεν τους καθιστά κατάλληλους για χειρουργική αντιμετώπιση [103]. Η χειρουργική παρηγορική αντιμετώπιση μπορεί να περιλαμβάνει την τοπική εκτομή (όχι R0 εκτομή) ή συνδυασμό

ενδοσκοπικών, διαδερμικών ή ακτινοθεραπευτικών παρεμβάσεων. Επειδή δεν υπάρχουν προοπτικές μελέτες, η ιδανική επιλογή παρηγορικής θεραπείας κατά μεγάλο μέρος στηρίζεται στην εξατομίκευση και τις ιδιαιτερότητες κάθε ασθενούς [104].

Οι χειρουργικές επιλογές για παρηγορητική θεραπεία είναι η γαστρεντερική παράκαμψη μέσω γαστροεντεροαναστόμωσης (ΓΕΑ), η γαστρεκτομή και η διενέργεια νησιδοστομίας σε εκτεταμένο γαστρικό καρκίνο. Σημαντικό είναι να ληφθεί υπόψη ότι οι ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο του στομάχου έχουν πολύ μικρή επιβίωση, και κάθε προσπάθεια για παρηγορική χειρουργική αντιμετώπιση θα πρέπει όχι μόνο να παρέχει ανακούφιση από τα συμπτώματα, αλλά επίσης να συνοδεύεται από ελάχιστη νοσηρότητα και θνητότητα [104].

Οι ενδοσκοπικές παρηγορικές θεραπείες είναι χρήσιμες όταν δεν μπορεί να γίνει χειρουργική εκτομή και περιλαμβάνουν τη διαστολή και τοποθέτηση μεταλλικής ενδοπρόθεσης (stent), ώστε να δίνεται η δυνατότητα στον ασθενή να μπορεί να τραφεί. Έχει συγκρίσιμα αποτελέσματα με τη ΓΕΑ, ενώ είναι λιγότερο επεμβατική ως μέθοδος και άρα έχει μικρότερη νοσηρότητα και θνητότητα [105].

Η παρηγορική χημειοθεραπεία έχει μέγιστο μέσο διάστημα επιβίωσης (9-11 μήνες αντί 3-5 μήνες άνευ αυτής) και καλύτερα ποσοστά 1-ετούς και 2-ετούς επιβίωσης (35-40% αντί για 10% και 6-10% αντί για 0%, αντίστοιχα άνευ αυτής) [106].

Η παρηγορική ακτινοθεραπεία αν και σχετίζεται με μείωση των αιμορραγιών και του πόνου και με ανακούφιση των συμπτωμάτων του ασθενούς έχει πολύ περιορισμένη χρήση και είναι αναποτελεσματική ως μόνη προσέγγιση. [106,107].

3.3 Σταδιοποίηση

Το πιο διαδεδομένο σύστημα σταδιοποίησης είναι το TNM, το οποίο λαμβάνει υπόψη το βάθος διήθησης του πρωτοπαθούς όγκου (T), τη συμμετοχή επιχώριων λεμφαδένων (N), και την παρουσία ή μη απομακρυσμένων μεταστάσεων (M).

TNM

Από την 1^η Ιανουαρίου 2010, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, οι διαγνωσμένοι γαστρικοί καρκίνοι σταδιοποιούνται σύμφωνα με την 7^η έκδοση AJCC/UICC TNM συστήματος σταδιοποίησης [90]. Η σταδιοποίηση περιλαμβάνει το βάθος διήθησης του όγκου (T), το νούμερο των διηθημένων λεμφαδένων (N) και την παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων (M). Οι κατηγορίες του βάθους διήθησης του όγκου και του αριθμού των διηθημένων λεμφαδένων στον καρκίνο του στομάχου έχουν περαιτέρω αλλάξει έτσι ώστε να διασφαλιστεί καλύτερη σταδιοποίηση και συσχέτιση με το προγνωστικό μέλλον των ασθενών [108]. Οι σημαντικές αλλαγές στο σύστημα σταδιοποίησης φαίνονται στον Πίνακα 3.3.1. Πιο συγκεκριμένα, οι T1 όγκοι διαχωρίζονται επιπλέον με τη νέα σταδιοποίηση σε βλεννογόνιες και υποβλεννογόνιες βλάβες. Οι T2a και T2b βλάβες ορίζονται πια ως T2 και T3 βλάβες που αντιπροσωπεύουν την διήθηση της βλεννογόνιας μυικής στοιβάδας και του υποβλεννογόνιου χιτώνα αντίστοιχα. Οι T3 και T4 βλάβες άλλαξαν σε T4a και T4b για να αντιπροσωπεύουν ορογόνια διάτρηση και διήθηση παρακείμενων οργάνων αντίστοιχα [90,108,109]. Επιπρόσθετα, η νέα N σταδιοποίηση τώρα διαχωρίζει 4 κατηγορίες διηθημένων λεμφαδένων αντί για 3 κατηγορίες (Πίνακας 3.3.1). Επιπλέον, οι ασθενείς με θετική περιτοναϊκή πλύση τώρα εντάσσονται στην M+ κατηγορία [90].

Έκτη Έκδοση Σταδιοποίησης		Έβδομη Έκδοση Σταδιοποίησης	
Tis	Καρκίνος in situ	Tis	Καρκίνος in situ
T1	Διήθηση βλεννογόνου (T1a) ή υποβλεννογόνιας στοιβάδας (T1b)	T1	Διήθηση βλεννογόνιας στοιβάδας (T1a) ή υποβλεννογόνιας (T1b) στοιβάδας
T2	Διήθηση μυικής ή υποβλεννογόνιας στοιβάδας	T2 ^a	Διήθηση μυικής στοιβάδας ^a
T3	Διήθηση ορογόνου	T3 ^a	Διήθηση υπορογόνιας στοιβάδας ^a
T4	Διήθηση παρακείμενων οργάνων	T4a ^a	Διήθηση ορογόνου ^a
		T4b ^a	Διήθηση παρακείμενων οργάνων ^a
TX	Ο πρωτοπαθής όγκος δεν μπορεί να ανευρεθεί	TX	Ο πρωτοπαθής όγκος δεν μπορεί να ανευρεθεί

N0	Δεν διαπιστώνεται λεμφαδενική διήθηση	N0	Δεν διαπιστώνεται λεμφαδενική διήθηση
N1	Διήθηση 1-6 λεμφαδένων	N1 ^a	Διήθηση 1-2 λεμφαδένων ^a
N2	Διήθηση 7-15 λεμφαδένων	N2 ^a	Διήθηση 3-6 λεμφαδένων ^a
N3	Διηθημένοι > 15 λεμφαδένες	N3a ^a	Διήθηση 7-15 λεμφαδένες ^a
		N3b ^a	Διήθηση > 15 λεμφαδένες ^a
NX	Η κατάσταση των λεμφαδένων δεν μπορεί να εκτιμηθεί	NX	Η κατάσταση των λεμφαδένων δεν μπορεί να εκτιμηθεί
M0	Δεν υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις	M0	Δεν υπάρχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις
M1	Απομακρυσμένες μεταστάσεις	M1	Απομακρυσμένες μεταστάσεις
Στάδιο 0	Tis, N0	Στάδιο 0	Tis, N0
Στάδιο IA	T1, N0	Στάδιο IA	T1, N0
Στάδιο IB	T1, N1; T2, N0	Στάδιο IB	T1, N1; T2, N0
Στάδιο II	T1, N2; T2, N1; T3, N0	Στάδιο IIA	T1, N2; T2, N1; T3, N0
		Στάδιο IIB	T1, N3; T2, N2; T3, N1; T4a, N0
Στάδιο IIIA	T2, N2; T3, N1; T4, N0	Στάδιο IIIA	T2, N3; T3, N2; T4a, N1
Στάδιο IIIB	T3, N2	Στάδιο IIIB	T3, N3; T4a, N2; T4b, N0-1
		Στάδιο IIIC	T4aN3; T4b, N2-3
Στάδιο IV	T4, N1-3; T1-3, N3; κάθε T, κάθε N, M1	Στάδιο IV	Κάθε T, κάθε N, M1

^a Τροποποιήσεις μεταξύ έκτης και έβδομης έκδοσης στη σταδιοποίηση του καρκίνου του στομάχου. Όσον αφορά τους όγκους που ξεκινούν από τον οισοφάγο η νέα σταδιοποίηση έχει απλοποιήσει την κατάσταση και περικλείει τους όγκους της καρδιο-οισοφαγικής συμβολής και τους εγγύς γαστρικούς καρκίνους.

Πίνακας 3.3.1. Έκτη και Έβδομη Έκδοση της American Joint Committee on Cancer (AJCC) συστήματος σταδιοποίησης για τον καρκίνο του στομάχου.

Στην 7^η έκδοση της TNM σταδιοποίησης οι καρκίνοι της γαστρο-οισοφαγικής συμβολής έχουν επανακατηγοριοποιηθεί ως εξής:

- Μια βλάβη με επίκεντρο έως και 5 εκ. από τη γαστρο-οισοφαγική συμβολή και με επέκταση στον οισοφάγο, σταδιοποιείται χρησιμοποιώντας τα κριτήρια του οισοφαγικού καρκινώματος.
- Οι βλάβες με επίκεντρο έως και 5 εκ. από την γαστρο-οισοφαγική συμβολή, αλλά χωρίς επέκταση στον οισοφάγο και οι βλάβες με επίκεντρο > 5 εκ. από τη γαστρο-οισοφαγική συμβολή σταδιοποιούνται σύμφωνα με τα κριτήρια του γαστρικού καρκινώματος [64,90,110].

Η πενταετής επιβίωση σήμερα στον καρκίνο του στομάχου κατά στάδιο έχει ως εξής: στάδιο I: 70%, στάδιο II: 30%, στάδιο III: 10%, στάδιο IV: 0% [111].

4. ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

4.1 Γενικές αρχές

Η θεμελιώδης αρχή της εξατομικευμένης ιατρικής είναι ότι πρέπει να χορηγείται το κατάλληλο φάρμακο ή η κατάλληλη θεραπεία στον κατάλληλο ασθενή την κατάλληλη χρονική στιγμή. Πρέπει να τονιστεί ότι υπάρχουν σημαντικές ‘διαφορές’ όχι μόνο ανάμεσα σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου και σε διαφορετικά όργανα, αλλά υπάρχει σημαντική ετερογένεια ακόμη και ανάμεσα στον ίδιο όγκο (ενδοογκική ετερογένεια).

Εξατομικευμένη αντιμετώπιση στον καρκίνο ορίζεται ως η χορήγηση της κατάλληλης θεραπείας στους ασθενείς σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά του καθενός (συμπεριλαμβανομένου του γενετικού τους προφίλ) και των μοριακών χαρακτηριστικών του νεοπλασματος του κάθε ασθενούς. Είναι πλέον ευρέως αποδεκτό το ότι η εξατομικευμένη ιατρική αποτελεί το μέλλον της ογκολογίας. Η εξατομίκευση της επιστήμης της ογκολογίας θα δίνει τη δυνατότητα στους ιατρούς ογκολόγους να επιλέγουν την κατάλληλη αντιμετώπιση για τον κάθε ασθενή αποφεύγοντας την υπο- ή την ‘υπερ’θεραπεία. Δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί τα τελευταία 20 χρόνια στον τομέα της διάγνωσης και της θεραπείας, ο καρκίνος αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου μετά τις καρδιαγγειακές παθήσεις. Γι’αυτό το λόγο φάρμακα που δρουν σε καθορισμένους μοριακούς στόχους καρκινικών κυττάρων (στοχευμένη θεραπεία) αναπτύχθηκαν και χρησιμοποιούνται σε συγκεκριμένους ασθενείς που πάσχουν από συγκεκριμένους καρκίνους, αλλά το πρόβλημα της θεραπευτικής αντοχής περιορίζει την επάρκειά τους.

4.2 Κατευθυντήριες Οδηγίες Εξατομικευμένης Αντιμετώπισης

Η αντιμετώπιση των ασθενών με καρκίνο στομάχου αποτελεί πρόκληση και τα τελευταία χρόνια περιλαμβάνει νέα, βελτιωμένα διαγνωστικά βοηθήματα, βελτιωμένη χειρουργική τεχνική, εξελιγμένα κυτταροτοξικά φάρμακα και στοχευμένες βιολογικές θεραπευτικές μεθόδους [112,113]. Η αντιμετώπιση αυτών των ασθενών όσον αφορά συγκεκριμένες καταστάσεις είναι ακόμη υπό συζήτηση. Για παράδειγμα, η επικουρική χημειοακτινοθεραπεία με 5-φλοροουρακίλη/λευκοβορίνη

βελτιώνει σημαντικά την επιβίωση ελεύθερης νόσου και τη συνολική επιβίωση όπως αποδείχθηκε από τη μελέτη US Intergroup INT-116 [114]. Από την άλλη μεριά, η περιεγχειρητική χημειοθεραπεία χωρίς ακτινοβολία έδειξε επίσης όφελος στην επιβίωση όπως διαπιστώθηκε από τη μελέτη UK-MAGIC trial [98].

Σύμφωνα όμως με τις πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες (National Comprehensive Cancer Network guidelines-NCCN), κάθε ασθενής με καρκίνο στομάχου οφείλει να έχει μια εξατομικευμένη θεραπευτική αντιμετώπιση με βάση το στάδιο της νόσου του [72].

Σταδιοποίηση

Το να υπάρχει μια σωστή, τεκμηριωμένη κλινική σταδιοποίηση είναι βασική προϋπόθεση για την περαιτέρω εξατομικευμένη αντιμετώπιση του ασθενούς. Η αρχική εκτίμηση συνιστάται σε μια προσεκτική λήψη ιστορικού, κλινική εξέταση και εργαστηριακές εξετάσεις. Η οισοφαγογαστροσκόπηση είναι θεμελιώδης αξίας στη διάγνωση μέσω βιοψίας, στο μέγεθος και στη θέση του όγκου. Ο ενδοσκοπικός υπέρηχος είναι πολύ σημαντικός γιατί έχει μεγαλύτερη ακρίβεια για την T και N σταδιοποίηση σε σχέση με την αξονική τομογραφία κοιλίας. Επιπρόσθετα, PET-CT τομογραφίες συνιστώνται από τις διεθνείς οδηγίες ως βοηθήματα για την αρχική σταδιοποίηση των ασθενών. Στις πιο πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες, το τεστ για Her2/neu έκφραση στο γαστρικό καρκίνο συνιστάται όταν πιθανολογείται μεταστατική νόσος [72].

-Αντιμετώπιση πρώιμης νόσου: υψηλού βαθμού δυσπλασία, Tis & T1aN0M0

Υψηλού βαθμού δυσπλασία και πρώιμος γαστρικός καρκίνος (T1) 'παραδοσιακά' αντιμετωπίζονταν με επιθετική χειρουργική εκτομή. Όμως η ενδοσκοπική εκτομή δίνει οριστική θεραπευτική λύση στο 70-94% των περιπτώσεων σε εξειδικευμένα κέντρα. Ακόμη και σε περίπτωση υποτροπής, οι επαναλαμβανόμενες τοπικές θεραπείες θεωρείται ότι μπορούν να δώσουν εξαιρετικά αποτελέσματα. Υπάρχουν ενδείξεις ότι σε εξειδικευμένα κέντρα οι ενδοσκοπικές μέθοδοι για συγκεκριμένους ασθενείς είναι ογκολογικά επαρκείς. Αναφέρεται ότι μετά από μεγάλες τυχαίοποιημένες μελέτες δεν υπάρχει διαφορά στην επιβίωση των ασθενών που υποβλήθηκαν σε ενδοσκοπική βλεννογονεκτομή σε σύγκριση με ασθενείς ίδιου σταδίου που υπεβλήθησαν σε χειρουργική επέμβαση. Παρόλα αυτά για

όγκους που διηθούν τον υποβλεννογόνο χιτώνα (T1b), το ποσοστό μεταστατικής διήθησης των τοπικοπεριοχικών λεμφαδένων μπορεί να φτάσει έως και 20 %. Γι' αυτό συστήνεται σε ασθενείς σταδίου T1b χωρίς συνοδά συμπτώματα, η χειρουργική αντιμετώπιση [115].

-Αντιμετώπιση τοπικής νόσου: T1b, T2 ή υψηλότερο & κάθε T με N+

Παρόλο που η επαρκής χειρουργική εκτομή είναι και παραμένει ο ακρογωνιαίος λίθος στην αντιμετώπιση της εντοπισμένης τοπικής νόσου, διάφορες τυχαιοποιημένες Phase III μελέτες (η έρευνα διενεργείται σε μεγάλες ομάδες ασθενών (1.000-3.000) ώστε να επιβεβαιωθεί η αποτελεσματικότητα θεραπευτικών μεθόδων ή φαρμάκων και να συλλεχθούν πληροφορίες που θα επιτρέψουν την ασφαλή χρήση του σκευάσματος ή της θεραπείας) έδειξαν ότι η 'πολύπλευρη' αντιμετώπιση της νόσου είναι ανώτερη σε σχέση μόνο με τη χειρουργική εκτομή για τη βελτίωση της συνολικής επιβίωσης και της επιβίωσης ελεύθερης νόσου. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες, οι ασθενείς χωρίς συνοδά προβλήματα σταδίου T1bN0, πρέπει να υποβάλλονται σε χειρουργική εκτομή ως πρώτη επιλογή [72,115]. Σε ασθενείς με πιο προχωρημένη νόσο (T2 ή πιο υψηλό, κάθε T με N+), συνιστάται μια συνδυασμένη αντιμετώπιση με προεγχειρητική χημειοθεραπεία ή χημειοακτινοθεραπεία [116]. Λεπτομέρειες παρατίθενται στη συνέχεια.

Επικουρική Χημειοακτινοθεραπεία & χημειοθεραπεία

Σύμφωνα με τις οδηγίες, σε ασθενείς με νόσο T1bN0, μετά από ένα επαρκές χειρουργείο, δεν χρειάζεται επικουρική χημειοθεραπεία ή χημειοακτινοθεραπεία. Παρόλα αυτά η επικουρική χημειοακτινοθεραπεία συνιστάται σε ασθενείς σταδίου T2 ή υψηλότερο ή κάθε T με N+ μετά από χειρουργική εκτομή γιατί οι τοπικοπεριοχικές και απομακρυσμένες υποτροπές είναι κοινές σε αυτή την ομάδα των ασθενών. Η σύσταση αυτή στηρίζεται στην INT-0116 μελέτη [114]. Η μετεγχειρητική χημειοακτινοθεραπεία (5-fluorouracil (5-FU) and leucovorin) είχε πολύ θετικά αποτελέσματα όσον αφορά την επιβίωση ελεύθερης νόσου και την ολική επιβίωση. Παρόλες τις προσπάθειες με διάφορες μελέτες να γίνει πιο επιθετική η μετεγχειρητική χημειοακτινοθεραπεία, έως σήμερα το σχήμα με 5-φλουουρακίλη και λευκοβορίνη είναι το προτεινόμενο στην Ευρώπη και στην Αμερική [114].

Τα αποτελέσματα από την γνωστή Ιαπωνική μελέτη S-1 (Taiho Pharmaceutical) είναι πραγματικά σημαντικά. Σε σύνολο 1059 ασθενών με νόσο σταδίου II ή III μετά από D2 χειρουργική εκτομή

τυχαιοποιήθηκαν σε ομάδες παρατήρησης ή χορήγησης για διάστημα ενός έτους από το στόμα S-1 επικουρικής θεραπείας [97]. Η τριετής επιβίωση ήταν στατιστικά σημαντικά βελτιωμένη στην ομάδα ασθενών που έλαβε S-1 (80.1% στην ομάδα S-1 vs 70.1% στην ομάδα παρατήρησης, $p = 0.003$). Η εφαρμογή του ίδιου σχήματος στις Δυτικές χώρες είναι απογοητευτική όπως έδειξε η μελέτη FLAG [117]. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε βιολογικές διαφορές ανάμεσα στους ασθενείς.

Λίγα χρόνια πριν, ο Bang και συν [99] δημοσίευσαν την μελέτη CLASSIC (Phase III μελέτη) όπου 1024 ασθενείς με καρκίνο στομάχου τυχαιοποιήθηκαν σε 8 κύκλους μετεγχειρητικής λήψης capecitabine και οξαλιπλατίνης ή σε παρατήρηση μετά από θεραπευτική D2 εκτομή [99]. Η πολύ σημαντική αυτή μελέτη έδειξε βελτιωμένη τριετή επιβίωση ελεύθερης νόσου (hazard ratio [HR]: 0.56; 95% CI: 0.44–40.72; $p < 0.0001$).

Περιεγχειρητική Χημειοθεραπεία (Θεραπεία προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά)

Περιεγχειρητική χημειοθεραπεία συνιστάται σε ασθενείς σταδίου T2 ή υψηλότερο, ή κάθε T με N+ νόσο. Η γενική αρχή της περιεγχειρητικής χημειοθεραπείας είναι το ‘downstaging’ του πρωτοπαθούς όγκου και η εξουδετέρωση των μικρομεταστάσεων [118]. Το όφελος της περιεγχειρητικής χημειοθεραπείας έχει αποδειχθεί και σε άλλους όγκους συμπαγών οργάνων, όπως ο μεταστατικός ορθοκολικός καρκίνος [119]. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε πλακώδες καρκίνωμα του οισοφάγου [120]. Η πιο ‘τρανταχτή’ απόδειξη για την αξία της περιεγχειρητικής χημειοθεραπείας είναι η μελέτη φάσης III UK MAGIC [98].

Προεγχειρητική Χημειοακτινοθεραπεία

Η προεγχειρητική χημειοακτινοθεραπεία έχει σίγουρα πλεονεκτήματα σε σχέση με τα πλεονεκτήματα της μετεγχειρητικής θεραπείας. Υποσταδιοποιεί τη νόσο, αυξάνει την πιθανότητα εκτομής, ‘αποστειρώνει’ το χειρουργικό πεδίο από τα καρκινικά κύτταρα. Κλινικά οι ερευνητές θεωρούν ότι η προεγχειρητική χημειοακτινοθεραπεία είναι καλύτερα ανεκτή [121].

Παρόλα αυτά οι περισσότερες μελέτες για την προεγχειρητική χημειοακτινοθεραπεία έχουν γίνει σε ασθενείς με οισοφαγικούς καρκίνους. Πρόσφατα, ένας σημαντικός αριθμός προοπτικών μελετών έχει διεξαχθεί μελετώντας την επάρκεια της προεγχειρητικής χημειοακτινοθεραπείας σε ασθενείς με

καρκίνο στομάχου [122-124]. Παρόλα αυτά αυτές οι μελέτες είχαν σχετικά μικρό αριθμό ασθενών. Ο Ajani και συν. [125] μελέτησαν 41 ασθενείς με 2 κύκλους προεγχειρητικής χημειοακτινοθεραπείας (5-FU, paclitaxel and cisplatin, ακολουθούμενο από ακτινοθεραπεία με ταυτόχρονη χορήγηση paclitaxel και 5-FU, και μετά χειρουργική επέμβαση). Η μελέτη αυτή είχε ως αποτέλεσμα ποσοστό επιτευχθείσας R0 εκτομής 78% και μέση επιβίωση 36 μήνες.

Μια πρόσφατη Γερμανική μελέτη συνέκρινε την προεγχειρητική χημειοθεραπεία με την περιεγχειρητική χημειοακτινοθεραπεία [126]. Σε αυτή την μελέτη, 126 ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του κατώτερου οισοφάγου ή της καρδιάς του στομάχου τυχαιοποιήθηκαν σε 2 ομάδες. Όλοι οι ασθενείς μετά τα σχήματα υπεβλήθησαν σε χειρουργική επέμβαση. Το πιο σημαντικό αποτέλεσμα αυτής της μελέτης ήταν ότι τα ποσοστά 3-ετούς ολικής επιβίωσης ήταν υψηλότερα στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν χημειοακτινοθεραπεία (47%) σε σχέση με την ομάδα ασθενών που έλαβαν μόνο χημειοθεραπεία (28%), αλλά αυτή η διαφορά δεν αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική ($p = 0.07$) [126]. Η σημαντική αυτή μελέτη λοιπόν έδειξε μια τάση για όφελος στην επιβίωση για τους ασθενείς που υποβάλλονται σε προεγχειρητική χημειοακτινοθεραπεία σε σχέση με τους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα γαστροοισοφαγικής συμβολής που λαμβάνουν μόνο προεγχειρητική χημειοθεραπεία [126]. Επιπλέον, μια σημαντική μετά-ανάλυση που συμπεριέλαβε 14 τυχαιοποιημένες μελέτες ανέδειξε επίσης όφελος της προεγχειρητικής χημειο-ακτινοθεραπείας σε σχέση με τη 'μεμονωμένη' χειρουργική επέμβαση [127].

Φαίνεται ότι οι μελέτες είναι περιορισμένες σε αυτόν τον τομέα, αλλά τα έως τώρα αποτελέσματα προοπτικών μελετών για την προεγχειρητική χημειοακτινοθεραπεία είναι πολλά υποσχόμενα. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχει αντίρρηση ότι μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες είναι απαραίτητες ώστε να έχουμε τη δυνατότητα για ασφαλή συμπεράσματα όσον αφορά το όφελος της προεγχειρητικής χημειοακτινοθεραπείας για τους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα στομάχου [127].

-Αντιμετώπιση ασθενών με μεταστατική νόσο

Η αντιμετώπιση αυτών των ασθενών (υποτροπή ή μεταστατική νόσος) καθορίζεται από τα συμπτώματα, τις συνυπάρχουσες παθήσεις και το performance status (Eastern Cooperative Oncology Group or Karnofsky) [128]. Για αυτούς τους ασθενείς η συστηματική χημειοθεραπεία είναι η

προτεινόμενη λύση [129]. Έχει αποδειχθεί από διάφορες μελέτες ότι η παρηγορητική χημειοθεραπεία προσφέρει σημαντικά στην ποιότητα ζωής, και απαλύνει τα συμπτώματα. Η χημειοθεραπεία καθώς και στοχευμένα θεραπευτικά σχήματα όπως το trastuzumab (Herceptin) έχουν αποδειχθεί πολύ σημαντικά σε επιλεγμένους ασθενείς (HER+) [130,131]. Δυστυχώς μόνο το 25% από όλους τους ασθενείς ανταποκρίνεται και για τους υπόλοιπους ασθενείς δεν υπάρχουν έως τώρα στοχευμένες θεραπείες που να έχουν αποδεκτά αποτελέσματα επάρκειας και όφελους στην επιβίωση [132-135]. Το μεγαλύτερο πρόβλημα με τους ασθενείς που λαμβάνουν στοχευμένες θεραπείες είναι η θεραπευτική αντίσταση που αναπτύσσουν μετά από κάποιο συγκεκριμένο χρονικό διάστημα [136]. Το επίσης σημαντικό στοιχείο στην εξατομίκευση της αντιμετώπισης των ασθενών με καρκίνο στομάχου είναι επίσης να αναγνωριστούν οι ασθενείς με φτωχό performance status και να χρησιμοποιηθούν οι κατάλληλες ‘υποστηρικτικές’-παρηγορητικές μέθοδοι [136,137].

-Παρακολούθηση (Follow-up)

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες (NCCN) απαιτείται follow-up κάθε 3–6 μήνες για τα πρώτα 2 χρόνια [72]. Από τον τρίτο χρόνο και μετά η παρακολούθηση πρέπει να γίνεται κάθε 6–12 μήνες. Επιπλέον, μετά τα 5 χρόνια, η παρακολούθηση πρέπει να γίνεται σε ετήσια βάση [138]. Το καλό ιστορικό, η κλινική εξέταση, οι βασικές εργαστηριακές εξετάσεις αποτελούν σημαντικά ‘όπλα’ στην περίοδο παρακολούθησης. Απεικονιστικές εξετάσεις και οισοφαγογαστροδωδεκαδακτυλοσκόπηση πρέπει να διενεργούνται όταν υπάρχει κλινική υποψία [139].

Αναμφίβολα, η αντιμετώπιση των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα στομάχου έχει βελτιωθεί σημαντικά την τελευταία δεκαετία και ο εξατομικευμένος προσανατολισμός στη νόσο αυτή είναι απαραίτητος. Νέες ενδοσκοπικές τεχνικές για την αντιμετώπιση της πρώιμης νόσου, βελτιωμένες πλέον επίσημα αποδεκτές τροποποιημένες χειρουργικές προσεγγίσεις και η ανάπτυξη νέων κυτταροτοξικών θεραπευτικών σχημάτων καθώς και η εξέλιξη στη στοχευμένη θεραπεία της προχωρημένης και μεταστατικής νόσου με το μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab, αποτελούν σημαντικά θεραπευτικά ‘όπλα’ στη σύγχρονη εξατομικευμένη αντιμετώπιση του καρκίνου του στομάχου [140-142].

Παρόλη αυτήν την πρόοδο στον τομέα του καρκίνου του στομάχου, αξίζει να σημειωθεί ότι η επιβίωση των ασθενών παραμένει σήμερα σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Η κατανόηση, η εμπειρισταωμένη σε βάθος

γνώση των μοριακών μηχανισμών που ευθύνονται για τον καρκίνο του στομάχου, η μελέτη ‘παραδοσιακών’ προγνωστικών παραγόντων για την επιθετική αυτή νόσο καθώς και ο προσδιορισμός νέων προγνωστικών παραγόντων, η ανάδειξη βιοδεικτών και ο προσδιορισμός πιθανώς εμπλεκόμενων μεταλλάξεων και γονιδίων για τη νόσο αυτή μέσα από σωστά σχεδιασμένες πολυκεντρικές μελέτες με τη χρήση νέων τεχνολογιών και σύνθετων μαθηματικών μοντέλων, κρίνεται ως απαραίτητη προϋπόθεση σήμερα ώστε να βελτιωθεί στο μέλλον η έγκαιρη διάγνωση, η εξατομικευμένη αντιμετώπιση και συνεπώς η πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο στομάχου [143,144].

4.3 Παραδοσιακοί Προγνωστικοί Παράγοντες

Τα τελευταία χρόνια, λόγω της φτώχης συνολικής επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο στομάχου, έχει γίνει μεγάλη προσπάθεια έτσι ώστε να καθοριστούν ευρέως αποδεκτοί προγνωστικοί παράγοντες για την επιθετική αυτή νόσο [145]. Οι παράγοντες που ακολουθούν αποτελούν γνωστούς κλινικούς, ‘παραδοσιακούς’ προγνωστικούς παράγοντες στον καρκίνο του στομάχου. Όλοι οι παράγοντες αυτοί συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 4.3.1). Αξίζει να σημειωθεί ότι πολλές κλινικές μελέτες τις τελευταίες δεκαετίες εστίασαν την προσοχή τους στην προσπάθεια ανάδειξης ή επιβεβαίωσης κλινικών παραμέτρων ως πιθανούς προγνωστικούς παράγοντες για τον καρκίνο του στομάχου.

Ακολουθεί ο πίνακας 4.3.1 με τους παράγοντες που έχουν μελετηθεί τα τελευταία χρόνια και έπεται ανάλυση αυτών.

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ
<i>ΗΛΙΚΙΑ</i>	ΧΕΙΡΟΤΕΡΗ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΣΕ ΝΕΑΡΕΣ ΗΛΙΚΙΕΣ	[146-148]
<i>ΕΠΙΠΕΔΑ ΚΑΡΚΙΝΟΕΜΒΡΥΙΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ (CEA)</i>	ΧΕΙΡΟΤΕΡΗ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΣΕ ΑΥΞΗΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ	[149-150]
<i>ΕΝΤΟΠΙΣΗ ΟΓΚΟΥ</i>	ΧΕΙΡΟΤΕΡΗ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΓΙΑ ΟΓΚΟΥΣ ΑΝΩ ΤΡΙΤΗΜΟΡΙΟΥ	[151]
<i>ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΟΓΚΟΥ > 40 mm</i>	ΑΝΤΙΚΡΟΥΟΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	[152]
<i>ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΤΑ BORRMANN</i>	ΤΥΠΟΣ III,IV (ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΙ ΟΓΚΟΙ) ΧΕΙΡΟΤΕΡΗ ΠΡΟΓΝΩΣΗ	[153-154]
<i>ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ</i>	ΠΙΟ ΕΠΙΘΕΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΕ ΟΓΚΟΥΣ ΧΑΜΗΛΗΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ	[153]

<i>ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΤΑ LAUREN</i>	ΔΙΑΧΥΤΟΣ ΤΥΠΟΣ ΧΕΙΡΟΤΕΡΗ ΠΡΟΓΝΩΣΗ	[154]
<i>ΣΤΑΔΙΟ ΝΟΣΟΥ ΚΑΤΑ TNM</i>	ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΟΝ ΠΙΟ ΙΣΧΥΡΟ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ	[155-157]
<i>T1a</i>	ΣΥΝΙΣΤΑΤΑΙ ΕΝΔΟΣΚΟΠΙΚΗ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΕΚΤΟΜΗ (ΑΡΙΣΤΗ ΠΡΟΓΝΩΣΗ)	[72]
<i>T1b</i>	ΣΥΝΙΣΤΑΤΑΙ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ (ΧΕΙΡΟΤΕΡΗ ΠΡΟΓΝΩΣΗ)	[72]
<i>ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΙΗΘΗΜΕΝΩΝ ΛΕΜΦΑΔΕΝΩΝ (LN Ratio)</i>	Η ΠΙΟ ΥΨΗΛΗ ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΣΥΝΔΕΕΤΑΙ ΜΕ ΧΕΙΡΟΤΕΡΗ ΠΡΟΓΝΩΣΗ	[158-159]
<i>ΤΥΠΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ (R0 ΕΚΤΟΜΗ)</i>	ΠΟΛΥ ΧΕΙΡΟΤΕΡΗ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΣΕ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΗ ΝΟΣΟ (R1) ΚΑΙ ΜΑΚΡΟΣΚΟΠΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΗ ΝΟΣΟ (R2) ΕΚΤΟΜΗ	[160]
<i>ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ-ΣΩΜΑΤΟΣ (BMI)</i>	ΑΝΤΙΚΡΟΥΟΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	[161]
ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ		
ΠΡΟΛΗΨΗ		
<i>CDH1 (πρωτεΐνη E-CADHERIN-συχνότητα 1-3%)</i>	ΚΙΝΔΥΝΟΣ > 70% ΓΙΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΣΤΟΜΑΧΟΥ ΔΙΑΧΥΤΟΥ ΤΥΠΟΥ. ΣΥΝΙΣΤΑΤΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΚΤΙΚΗ ΟΛΙΚΗ ΓΑΣΤΡΕΚΤΟΜΗ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ ΤΕΣΤ ΓΙΑ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΣΤΟ <i>CDH1</i>	[162,164]
ΘΕΡΑΠΕΙΑ		
<i>HER2 (ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΣΗ ΣΤΟ 25% ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΣΤΟΜΑΧΟΥ)</i>	ΔΙΑΘΕΣΙΜΗ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΜΟΝΟΚΛΟΝΙΚΟ ΑΝΤΙΣΩΜΑ (Trastuzumab)	[163,165,166]

Πίνακας 4.3.1. Προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του στομάχου.

ΗΛΙΚΙΑ

Αν και δεν είναι από όλους τους ερευνητές αποδεκτό, η νεαρή ηλικία έχει αποδειχθεί σε κάποιες μελέτες να συνδέεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με πιο φτωγή επιβίωση σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα στομάχου [146,147]. Επίσης αξίζει να αναφερθεί ότι κάποιοι συγγραφείς έχουν αποδώσει κατά καιρούς καλύτερη πρόγνωση σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου που ανήκουν στο γυναικείο φύλο [148].

ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Αν και ο ρόλος του CEA είναι ακόμη και σήμερα αμφισβητήσιμος όσον αφορά την έρευνα στον καρκίνο του στομάχου, έχει συζητηθεί και δημοσιευθεί αρκετές φορές το ότι τα αυξημένα επίπεδα πλάσματος καρκινοεμβρυικού αντιγόνου - CEA έχουν σημαντική προγνωστική αξία όσον αφορά το στάδιο της νόσου και γι' αυτόν τον λόγο προσδίδουν σημαντικές προγνωστικές πληροφορίες για τους ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο στομάχου. Όσον αφορά το CA 19.9 δεν υπάρχει επίσημα ευρέως αποδεκτή η προγνωστική του σημασία στον καρκίνο του στομάχου. [149]. Επιπρόσθετα, αναφέρεται από μερικούς συγγραφείς ότι όταν γίνεται μέτρηση των επιπέδων CEA στο περιτοναϊκό υγρό που στέλνεται για εξέταση, οι υψηλές τιμές του συνοδεύονται από πιο δυσμενή πρόγνωση [150].

ΕΝΤΟΠΙΣΗ ΟΓΚΟΥ

Υποστηρίζεται πια χωρίς καμμία αμφιβολία από τη διεθνή βιβλιογραφία ότι οι ασθενείς με καρκίνωμα στομάχου με εντόπιση στο άνω τριτημόριο έχουν χειρότερη πρόγνωση σε σχέση με τους ασθενείς που έχουν όγκους που εντοπίζονται στο σώμα ή στο άντρο του στομάχου (μέσο και κάτω τριτημόριο του στομάχου) [151]. Οι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι οι όγκοι του άνω τριτημορίου του στομάχου έχουν τις περισσότερες φορές μεγαλύτερες διαστάσεις σε σχέση με εκείνους που εντοπίζονται σε άλλες περιοχές του στομάχου, παρουσιάζουν μεγαλύτερο ποσοστό 'βαθιάς' διήθησης του γαστρικού τοιχώματος και παρουσιάζουν μεγαλύτερο ποσοστό αγγειακής διήθησης καθώς και μεγαλύτερο αριθμό διηθημένων μεταστατικών λεμφαδένων [151]. Όλοι αυτοί οι παράγοντες σχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση για τους ασθενείς αυτούς.

Επιπρόσθετα, έχει παρατηρηθεί ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των όγκων του άνω τριτημορίου του στομάχου είναι διαχύτου τύπου κατά Lauren και για το λόγο αυτό οι ασθενείς έχουν χειρότερη πρόγνωση [151].

ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΟΓΚΟΥ

Περιγράφεται στη βιβλιογραφία ότι ένα καρκίνωμα στομάχου με διαστάσεις > 40 mm εκθέτει τους ασθενείς σε μεγαλύτερο κίνδυνο μοιραίας κατάληξης από 1,2 έως 1,7 φορές σε σχέση με καρκίνους μικρότερων διαστάσεων [152]. Παρόλα αυτά, ακόμη δεν έχει διαλευκανθεί από τη διεθνή

βιβλιογραφία το εάν οι διαστάσεις του όγκου αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης σε ασθενείς που πάσχουν από τη νόσο αυτή σε σχέση με άλλες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους που κατά καιρούς έχουν μελετηθεί [152].

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ Borrmann

Περιγράφεται ότι ένας από τους λόγους στους οποίους οφείλεται η χρήση ακόμα και σήμερα της ταξινόμησης Borrmann (πίνακας 4.3.2) οφείλεται στην προγνωστική της αξία, η οποία έχει επιβεβαιωθεί από σημαντικές μελέτες και ανασκοπήσεις [153].

<u>τύπος I</u>	πολυπόδες
<u>τύπος II</u>	ελκωτικό
<u>τύπος III</u>	ελκωτικό διηθητικό
<u>τύπος IV</u>	διηθητικό

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.3.2: Ταξινόμηση Borrmann

Φαίνεται ότι οι ασθενείς με καρκίνους τύπου I και II κατά Borrmann χαρακτηρίζονται από καλύτερο προγνωστικό αποτέλεσμα σε σχέση με του ασθενείς που πάσχουν από όγκους τύπου III και IV κατά Borrmann (διηθητικοί όγκοι) [153]. Πρέπει να σημειωθεί ότι σε μια πολύ σημαντική μελέτη ο Zhang και συν. [154] μελετώντας και αναλύοντας 3000 ασθενείς είχαν ως σκοπό να καθορίσουν τους κυριότερους προγνωστικούς παράγοντες στον καρκίνο του στομάχου [154]. Οι συγγραφείς στα αποτελέσματά τους ανέδειξαν ότι η ταξινόμηση κατά Borrmann αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης σε ασθενείς με αδenoκαρκίνωμα στομάχου [154].

ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΟΓΚΟΥ

Πρέπει να σημειωθεί εδώ ότι ο βαθμός διαφοροποίησης του όγκου (χαμηλή, μέτρια, υψηλή) συνδέεται, σύμφωνα με έγκυρα βιβλιογραφικά δεδομένα, με πιο επιθετικό χαρακτήρα της νόσου για ασθενείς με όγκους χαμηλής διαφοροποίησης. Παρόλα αυτά όμως η καθαρή προγνωστική αξία του βαθμού διαφοροποίησης μένει ακόμη να διευκρινιστεί πλήρως καθώς υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα έως σήμερα [154]. Πράγματι, διάφορες αναδρομικές μελέτες με μεγάλες σειρές

ασθενών, απέτειχαν να αναδείξουν το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου ως ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου σε σχέση με άλλες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους [154].

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΤΑ LAUREN

Είναι ευρέως γνωστό ότι για τον ορισμό του ιστότυπου του καρκινώματος στομάχου χρησιμοποιείται η ταξινόμηση κατά Lauren, στην οποία πολλοί συγγραφείς αναγνωρίζουν ουσιαστική προγνωστική αξία. Συγκεκριμένα, αποδίδεται στο καρκίνωμα διαχύτου τύπου (για μερικούς συγγραφείς συμπίπτει με το αδενοκαρκίνωμα που χαρακτηρίζεται από κύτταρα δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου) ένας σημαντικός ρόλος φτωχού προγνωστικού αποτελέσματος για τους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα τέτοιου τύπου [154].

Διευκρινίζεται λοιπόν στη βιβλιογραφία ότι οι ασθενείς με καρκίνο στομάχου διαχύτου τύπου έχουν χειρότερη πρόγνωση αλλά παρόλα αυτά δεν υπάρχει σαφή, ισχυρή μελέτη που να αναδεικνύει χωρίς αμφιβολία το ρόλο της ταξινόμησης κατά Lauren ως ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα μέσα από πολυπαραγοντικές αναλύσεις διαφόρων παραμέτρων [154].

ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ (TNM)

Σε αυτό το σημείο πρέπει να υπογραμμιστεί ότι στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει πλέον παγκόσμια ομοφωνία στο ότι το σύστημα σταδιοποίησης Tumor Node Metastases (TNM) έχει αναμφισβήτητη προγνωστική αξία στους ασθενείς με καρκίνο στομάχου και προκύπτει τόσο από μονοπαραγοντικές αλλά και από πολυπαραγοντικές αναλύσεις [155].

Πιο συγκεκριμένα, το βάθος διήθησης του γαστρικού τοιχώματος (pT) και ο βαθμός μεταστατικής λεμφαδενικής διήθησης (pN) αποτελούν τους παράγοντες που είναι πιο ισχυρά συνδεδεμένοι με την πρόγνωση των ασθενών τόσο σε Δυτικές μελέτες όσο και σε μελέτες που προέρχονται από χώρες της Ανατολής. Επιπλέον περιγράφεται ότι το βάθος διήθησης του τοιχώματος του στομάχου είναι αντιστρόφως ανάλογο με τα ποσοστά επιβίωσης μακράς διάρκειας των ασθενών με καρκίνο στομάχου και άμεσα συνδεδεμένη με την πιθανότητα ανάπτυξης υποτροπής της νόσου. Όσον αφορά την αξία του βάθους διήθησης του τοιχώματος του στομάχου πρέπει να αναφερθεί ότι είναι ιδιαίτερα

σημαντικό ακόμα και για τα πρώιμα στάδια της νόσου. Για παράδειγμα όταν η διήθηση του όγκου αφορά μόνο την βλεννογόνια στοιβάδα (T1a), αρκεί η ενδοσκοπική βλεννογονεκτομή σαν θεραπευτική προσέγγιση, όταν όμως η διήθηση επεκτείνεται και στην υποβλεννογόνια στοιβάδα (T1b), το ποσοστό λεμφαδενικής καρκινικής διήθησης αυξάνεται και συνεπώς η πρόγνωση των ασθενών χειροτερεύει. Γι' αυτό τον λόγο συνιστάται η χειρουργική εκτομή [72].

Όσον αφορά την αξία της λεμφαδενικής καρκινικής διήθησης (pN), τώρα πια είναι πολυάριθμες οι επιβεβαιώσεις που προέρχονται από σημαντικές μελέτες για την ισχυρή προγνωστική της αξία. Ο αριθμός των διηθημένων λεμφαδένων στον καρκίνο του στομάχου έχει αδιαμφισβήτητη προγνωστική σημασία, όπως τεκμηριώνεται από την βιβλιογραφία [156,157].

Παράλληλα, δεν χωράει αμφιβολία στο ότι η παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων (M) αποτελεί σίγουρα δείκτη άσχημης πρόγνωσης που ελαχιστοποιεί κάθε πιθανότητα θεραπευτικής προσέγγισης [72].

ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΙΗΘΗΜΕΝΩΝ ΛΕΜΦΑΔΕΝΩΝ (LN Ratio)

Η διεθνής βιβλιογραφία σήμερα υποστηρίζει παγκοσμίως την καίρια σημασία και την προγνωστική αξία της εκτεταμένης λεμφαδενεκτομής. Επιπλέον, η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN Ratio), που ορίζεται ως ο λόγος ανάμεσα των διηθημένων μεταστατικών λεμφαδένων προς τους ολικούς εξαιρεθέντες λεμφαδένες, σύμφωνα με τον Siewert και συνεργάτες θα μπορούσε να αποτελέσει ένα μέτρο αξιολόγησης της έκτασης της λεμφαδενεκτομής. Κατ' αυτόν τον τρόπο εκτέμνοντας τον μεγαλύτερο αριθμό λεμφαδένων θα είχε ως αποτέλεσμα να αντιστοιχεί σε κάθε ασθενή μια αναλογία διηθημένων λεμφαδένων αναλογικά πιο χαμηλή και συνεπώς μια καλύτερη πρόγνωση. Όμως θα πρέπει να τονιστεί εδώ ότι δεν υπάρχει ομοφωνία στη βιβλιογραφία όσον αφορά την πραγματική σχέση ανάμεσα σε αναλογία διηθημένων λεμφαδένων και έκταση λεμφαδενεκτομής, μιας και άλλοι συγγραφείς απέδειξαν μια ευθεία αναλογική σχέση ανάμεσα σε εξαιρεθέντες λεμφαδένες και μεταστατικούς λεμφαδένες.

Παρόλα αυτά πρέπει να τονιστεί ότι σύμφωνα με την Αμερικανική Ένωση κατά του Καρκίνου (American Joint Committee on Cancer) ο συνολικός αριθμός των μεταστατικών λεμφαδένων είναι

από τους πιο σημαντικούς προγνωστικούς παράγοντες στον καρκίνο του στομάχου. Επιπρόσθετα, σημαντικές μελέτες αναδεικνύουν την αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων ως σημαντικό προγνωστικό παράγοντα στον καρκίνο του στομάχου και κάποιες από αυτές προσδίδουν στην αναλογία αυτή τα χαρακτηριστικά του ανεξάρτητου προγνωστικού παράγοντα επιβίωσης [158].

Με βάση τα αποτελέσματα αυτά αναφέρεται ότι κάποιοι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων μπορεί να αποτελεί ακόμη και πιο ισχυρό προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης σε σχέση με το ήδη καταξιωθέν παγκοσμίως N σύστημα σταδιοποίησης των λεμφαδένων στον καρκίνο του στομάχου [159].

ΤΥΠΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΕΠΕΜΒΑΣΗΣ

Ένας από τους πιο ισχυρούς προγνωστικούς παράγοντες στον καρκίνο στομάχου είναι ο ίδιος ο χειρουργός και η χειρουργική επέμβαση στην οποία υποβάλλεται ο ασθενής. Είναι πολύ σημαντικό να αναλυθεί ο ρόλος του χειρουργού όσον αφορά την πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο στομάχου. Η επιθετική αλλά ταυτόχρονα ασφαλής χειρουργική επέμβαση που προϋποθέτει εμπειρία και άρτια χειρουργική τεχνική μπορεί να προσφέρει την πιθανότητα καλύτερης πρόγνωσης ειδικά σε ασθενείς με προχωρημένη νόσο.

Έτσι λοιπόν αν η επέμβαση είναι ριζική και δεν υπάρχουν μακροσκοπικά και μικροσκοπικά υπολείμματα όγκου (R0 εκτομή), οι πιθανότητες μακράς επιβίωσης αυξάνονται σημαντικά σε κάθε ασθενή [160].

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, η παρουσία υπολείμματος από το νεόπλασμα μετά τη γαστρεκτομή, είτε μικροσκοπικής φύσης (R1 εκτομή), είτε μακροσκοπικής φύσης (R2 εκτομή), είναι απόλυτης και ζωτικής σημασίας στο να καθορίσει την πρόγνωση των ασθενών ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας.

Πιο συγκεκριμένα, όλοι οι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η ριζική (R0) εκτομή θεωρείται ως ο πιο σημαντικός προγνωστικός παράγοντας στον καρκίνο του στομάχου ακόμα και σε ασθενείς που υποβάλλονται σε πολλαπλές ογκολογικές θεραπευτικές προσεγγίσεις, είτε προεγχειρητικά, είτε μετεγχειρητικά [160].

ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ-ΣΩΜΑΤΟΣ (BMI)

Επειδή τα τελευταία χρόνια η παχυσαρκία αποτελεί σημαντικό θέμα που απασχολεί τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας και θεωρείται η νόσος του αιώνα μας, ο δείκτης μάζας σώματος (BMI) των ασθενών αποτελεί μια κλινική παράμετρο που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη από τους κλινικούς ιατρούς. Στην Ευρώπη και στην Αμερική το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών είναι υπέρβαροι ή παχύσαρκοι. Όσον αφορά το δείκτη μάζας σώματος των ασθενών με καρκίνο στομάχου και την πιθανή προγνωστική του αξία, οι λιγοστές μελέτες που έχουν γίνει μέχρι τώρα δείχνουν αντικρουόμενα αποτελέσματα και δεν υπάρχουν σαφείς ενδείξεις υπέρ της προγνωστικής του αξίας [161].

4.4 ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ

ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η έρευνα της γενετικής του καρκίνου οδήγησε στην ανακάλυψη δύο πολύ σημαντικών γονιδίων που χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πράξη από τους κλινικούς γιατρούς. Το 1998, το γονίδιο *CDH1* ανακαλύφθηκε από τους ερευνητές και πρόσφατα χρησιμοποιείται επίσημα και κατοχυρωμένα για τη λήψη σημαντικών εξατομικευμένων αποφάσεων για ασθενείς με καρκίνο στομάχου στον τομέα της πρόληψης [162]. Όσον αφορά τον τομέα της θεραπευτικής αντιμετώπισης το γονίδιο *Her 2* (the human epidermal growth factor receptor 2) καθορίζει την εξατομικευμένη θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών με το μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab [163]. Το trastuzumab είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που ενώνεται με το εξωκυτταρικό τμήμα του υποδοχέα, δρώντας ουσιαστικά μπλοκάρωντας τον Her2 υποδοχέα όπως και προκαλώντας την αντίσωματο-εξαρτώμενη κυτταρική τοξικότητα. Όμως ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με καρκίνο στομάχου παρουσιάζουν θεραπευτική ‘αντοχή’ στο μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab. Επιπρόσθετα, ένα πολύ σημαντικό ποσοστό των ασθενών αυτών, που υπολογίζεται περίπου στο 25% όλων των ασθενών, παρουσιάζουν υποτροπή της νόσου.

ΠΡΟΛΗΨΗ

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι η πρόληψη είναι απαραίτητη προϋπόθεση έτσι ώστε να μειωθεί η επίπτωση και η νοσηρότητα του καρκίνου του στομάχου. Κατ'αυτόν τον τρόπο, το γενετικό τεστ σε άτομα με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου στομάχου διαχύτου τύπου επιτρέπει την αναγνώριση εκείνων των ασθενών-μελών οικογενειών με μεταλλάξεις στο γονίδιο *CDHI* [162,164]. Αυτοί οι ασθενείς που έχουν αυτές τις μεταλλάξεις, παρουσιάζουν πολύ μεγάλο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου στομάχου διαχύτου τύπου και οι γυναίκες με τέτοιες μεταλλάξεις έχουν ένα επιπρόσθετο κίνδυνο να αναπτύξουν καρκίνο μαστού λοβιακού τύπου [164].

Επιπρόσθετα, η πρωτεΐνη E-cadherin που κωδικοποιείται από το γονίδιο *CDHI* είναι πολύ σημαντική όσον αφορά τις μοριακές συνδέσεις μεταξύ γειτονικών κυττάρων στον στόμαχο και τον μαστό. Πρόσφατες ενδείξεις υποστηρίζουν ότι άτομα με E-cadherin μεταλλάξεις έχουν κίνδυνο εφόρου ζωής να αναπτύξουν καρκίνο στομάχου διαχύτου τύπου της τάξης του 80% και οι γυναίκες που φέρουν αυτού του είδους την μετάλλαξη παρουσιάζουν ένα επιπρόσθετο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου μαστού λοβιακού τύπου της τάξεως του 40%. Γι' αυτούς τους λόγους πρέπει να τονιστεί ότι έχει αναγνωριστεί από τη διεθνή επιστημονική κοινότητα ο σημαντικός ρόλος της προφυλακτικής ολικής γαστρεκτομής για τα άτομα που φέρουν *CDHI* μεταλλάξεις [164]. Είναι λοιπόν αδιαμφισβήτητος ο καίριος προγνωστικός ρόλος των μεταλλάξεων *CDHI* και η μόνη σίγουρη λύση για την πρόληψη του καρκίνου σε αυτά τα άτομα είναι η ολική γαστρεκτομή.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Όσον αφορά τον θεραπευτικό τομέα, πρόσφατες ενδείξεις στο χώρο των μοριακών στοχευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων, που συμπεριλαμβάνουν το Her2, αντιπροσωπεύει σήμερα την μεγάλη ελπίδα στη θεραπευτική 'φαρέτρα' έναντι στον καρκίνο του στομάχου [163]. Η εφαρμογή των στοχευμένων Her2 θεραπευτικών μεθόδων και ιδιαίτερα η χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος trastuzumab σε συνδυασμό με χημειοθεραπευτικά σχήματα σε επιλεγμένους ασθενείς με καρκίνο στομάχου και μεταστατική νόσο (Her2 θετικούς γαστρικούς καρκίνους) απέδωσε, σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα, πολύ σημαντικά αποτελέσματα όσον αφορά τη βελτίωση των

ποσοστών συνολικής επιβίωσης [165]. Για του λόγου το αληθές, το trastuzumab είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που ενώνεται με το εξωκυτταρικό τμήμα του υποδοχέα, δρώντας ουσιαστικά μπλοκάροντας τον Her2 υποδοχέα όπως και προκαλώντας την αντίσωματο-εξαρτώμενη κυτταρική τοξικότητα.

Πρέπει όμως να τονιστεί ότι όπως έχει περιγραφεί και για αρκετές ασθενείς με καρκίνο μαστού, πολλοί ασθενείς με καρκίνο στομάχου παρουσιάζουν θεραπευτική ‘αντοχή’ στο trastuzumab. Επιπρόσθετα, ένα πολύ σημαντικό ποσοστό των ασθενών αυτών, που υπολογίζεται περίπου στο 25% όλων των ασθενών, παρουσιάζουν υποτροπή της νόσου, ενώ για το υπόλοιπο 75% των ασθενών με καρκίνο στομάχου, δεν υφίσταται στοχευμένη θεραπεία [165].

Γι’ αυτούς τους λόγους (αντοχή στην στοχευμένη θεραπεία, υποτροπή της νόσου), διάφορα πολλά υποσχόμενα φάρμακα σχεδιάζονται και δοκιμάζονται σε συνδυασμό με χημειοθεραπευτικά σχήματα, έτσι ώστε να αυξηθεί η επάρκεια και να ‘νικηθεί’ η αντοχή στη θεραπεία. Σήμερα, μια ουσιαστική εναλλακτική λύση στο trastuzumab, αποτελείται από το συνδυασμένο φάρμακο trastuzumab-emtansine (T-DM1). Το συνδυασμένο αυτό φάρμακο (T-DMI) έχει αποδειχθεί ότι έχει αυξημένη θεραπευτική επάρκεια σε ασθενείς με Her2 θετικούς καρκίνους μαστού και υπάρχουν πολλές ελπίδες για παρόμοια ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε ασθενείς με Her2 θετικούς καρκίνους στομάχου στο άμεσο μέλλον [166].

Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι η καταγραφή της δραστηριότητας της Πανεπιστημιακής Χειρουργικής κλινικής των Ιωαννίνων στον καρκίνο του στομάχου τα τελευταία χρόνια (από 1/07/2000 έως 31/06/2009) με σκοπό, μέσα από την ανάλυση των ασθενών μας, να καθοριστούν παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή και να καθοριστούν παράγοντες που έχουν επίπτωση στην επιβίωση των ασθενών με καρκίνο στομάχου. Ο έλεγχος, μέσα από τα δικά μας αποτελέσματα, ήδη προσδιορισμένων και κατοχυρωμένων προγνωστικών παραγόντων στον καρκίνο του στομάχου και η μελέτη κλινικών παραγόντων με αμφιλεγόμενη έως τώρα αξία (δείκτης μάζας σώματος, περινευρική διήθηση) στη βιβλιογραφία αποτελούν επίσης στόχους της μελέτης αυτής.

Στη συγκεκριμένη μελέτη θα γίνει επίσης προσπάθεια ανάδειξης και ανάλυσης νέων προγνωστικών παραγόντων στον καρκίνο του στομάχου που τα τελευταία χρόνια έχουν κερδίσει το ενδιαφέρον της παγκόσμιας Επιστημονικής Κοινότητας, αλλά οι δημοσιευμένες μελέτες μέχρι σήμερα για τον πιθανό τους ρόλο είναι περιορισμένες και τα αποτελέσματα αντικρουόμενα.

Η μελέτη αυτή αποσκοπεί επίσης στον προσδιορισμό, μέσω της σύγχρονης γενετικής ανάλυσης με τεχνολογίες επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing Analyses) σε φρέσκο γαστρικό ιστό (ζεύγος καρκινικού και φυσιολογικού γαστρικού ιστού από τον ίδιο ασθενή με καρκίνο στομάχου), πιθανών μεταλλάξεων και πιθανών εμπλεκόμενων γονιδίων στη γαστρική καρκινογένεση.

Η συγκεκριμένη μελέτη λοιπόν αποτελείται από 2 σκέλη και έχει διπλό σκοπό:

1^ο ΣΚΕΛΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ (ΚΛΙΝΙΚΟ ΣΚΕΛΟΣ):

Αναδρομική κλινική μελέτη με λεπτομερή καταγραφή και ανάλυση της εμπειρίας της κλινικής μας στον καρκίνο του στομάχου από 01/07/2000 έως 31/06/2009 με σκοπό την λεπτομερή μελέτη, την καταγραφή και ανάλυση των μετεγχειρητικών επιπλοκών καθώς και την μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση όσον αφορά παράγοντες και παραμέτρους που μπορεί να σχετίζονται με την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών. Επιπλέον, βασικός στόχος της κλινικής

αυτής μελέτης είναι η εμπειριστατωμένη ανεύρεση και η μελέτη προγνωστικών παραγόντων μέσα από μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση επιβίωσης καθώς και η σύγκριση των ευρημάτων μας με αυτά της διεθνούς βιβλιογραφίας όσον αφορά ασθενείς με εξαιρετικό καρκίνο στομάχου.

Τα περιστατικά που καταγράφηκαν προοπτικά από το 2011 έως το 2013 χρησιμοποιήθηκαν μόνο για το γενετικό σκέλος της ανάλυσης. Δεν υπήρχε επαρκής χρόνος για την μελέτη επιβίωσης.

2^ο ΣΚΕΛΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ (ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΕΠΟΜΕΝΗΣ ΓΕΝΙΑΣ):

Προσπάθεια καθορισμού, μέσω προοπτικής συλλογής βιολογικών υγρών και ιστών και γενετικής ανάλυσης με τεχνολογίες επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing analyses), πιθανών μεταλλάξεων, γενετικών πολυμορφισμών και πιθανών εμπλεκόμενων γονιδίων στον καρκίνο του στομάχου. Οι φρέσκοι γαστρικοί ιστοί που συλλέχθησαν προοπτικά (για κάθε ασθενή έγινε συλλογή καρκινικού γαστρικού ιστού – φυσιολογικού γαστρικού ιστού) διατηρούνται σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) στην Βιοτράπεζα του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Η γενετική ανάλυση με τεχνολογίες επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing) σε επιλεγμένους ασθενείς για τον πιθανό προσδιορισμό γενετικών μεταλλάξεων, πιθανών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών και κυρίως για τον προσδιορισμό λίστας γονιδίων που να έχουν εμπλοκή στην γαστρική καρκινογένεση καθώς και η σύγκριση των ευρημάτων μας με αυτά της διεθνούς βιβλιογραφίας (ήδη προσδιορισμένα εμπλεκόμενα γονίδια) στον καρκίνο του στομάχου αποτελεί βασικό στόχο της παρούσας μελέτης.

6. ΥΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ

1^ο ΣΚΕΛΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ (ΚΛΙΝΙΚΟ ΣΚΕΛΟΣ):

Το πρώτο σκέλος (κλινικό σκέλος) της μελέτης αυτής είναι αναδρομικής φύσεως. Περιλαμβάνει 104 συνεχόμενους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα στομάχου που υπεβλήθησαν σε θεραπευτική (R0) γαστρεκτομή τη χρονική περίοδο από 01/07/2000 έως 31/06/2009, στη Χειρουργική κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

Για το λόγο αυτό, οι ιατρικοί φάκελοι 69 ανδρών (66%) και 35 γυναικών (34%) με αδενοκαρκίνωμα στομάχου μελετήθηκαν αναλυτικά. Συμπεριελήφθησαν στη μελέτη αυτή όλοι οι ασθενείς με ελάχιστο χρόνο παρακολούθησης (follow up) 36 μηνών. Επιπλέον, κανένας από τους ασθενείς αυτούς δεν έλαβε προεγχειρητική χημειοθεραπεία. Ολική γαστρεκτομή διενεργήθηκε σε 59 ασθενείς και υφολική γαστρεκτομή διενεργήθηκε σε 45 ασθενείς.

Υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος των ασθενών (Body Mass Index-BMI) και οι ασθενείς χωρίστηκαν αρχικά σε 2 ομάδες: Ομάδα Α – Ομάδα Υπέρβαρων: $BMI \geq 25$ και Ομάδα Β – Ομάδα ασθενών με φυσιολογικό βάρος: $BMI < 25$. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα χαρακτηριστικά των ασθενών και τα χαρακτηριστικά των νεοπλασμάτων ήταν παρόμοια ανάμεσα στις δύο ομάδες και άρα οι ομάδες μελέτης ήταν ομοιογενείς (πίνακας 6.1). Ο λόγος που έγινε αρχικά αυτός ο διαχωρισμός με βάση το BMI ήταν ότι δεν είχε καθοριστεί στη βιβλιογραφία η σημασία του σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου.

	BMI <25	BMI ≥25	P value
Αριθμός	48	56	
Ηλικία	69.2	65.9	0.11
Άντρες /Γυναίκες	31/17	38/18	0.87
Στάδιο			
I	7 (14,58%)	11 (19,64%)	0.61
II	7 (14,58%)	15 (26,78%)	0.24
III	33 (68,75%)	29 (51,78%)	0.42
IV	1 (2,08%)	1 (1,78%)	1
Lauren			
Εντερικός	27 (56,25%)	32 (57,14%)	1
Διάχυτος	17 (35,41%)	18 (32,14%)	0.84
Μεικτός	4 (8,33%)	6 (10,71%)	0.75
Περινευρική και μικροαγγειακή διήθηση	28	30	0.87
Χειρουργική Εκτομή			
Ολική	24	35	0.51
Υφολική	24	21	0.47
Μέγιστη διάμετρος νεοπλάσματος	4.979	5.285	0.61
Διαφοροποίηση			
Χαμηλή	29 (60,41%)	20 (35,71%)	0.16
Μέτρια	14 (29,16%)	32 (57,14%)	0.07
Υψηλή	5 (10,41%)	4 (7,14%)	0.73

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1 Χαρακτηριστικά ασθενών και νεοπλασμάτων μεταξύ των δύο ομάδων μελέτης (Διαφαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστική σημαντικότητα σε κανένα από τα χαρακτηριστικά των ασθενών ή των νεοπλασμάτων. Από αυτό φαίνεται ότι οι ομάδες μελέτης ήταν ομοιογενείς)

Επιπλέον για όλους τους ασθενείς αποτέλεσε αντικείμενο μελέτης η νοσηρότητα (ελάσσονες και μείζονες μετεγχειρητικές επιπλοκές) και η επιβίωση (σε μήνες). Διενεργήθηκε στατιστική ανάλυση - μελέτη πιθανών παραγόντων - παραμέτρων σε σχέση με την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από γαστρεκτομή καθώς και στατιστική ανάλυση - μελέτη παραγόντων - παραμέτρων σε σχέση με την επιβίωση των ασθενών με καρκίνο στομάχου που υπεβλήθησαν σε ριζική (R0) γαστρεκτομή.

Στατιστική Ανάλυση:

Pearsons Chi-Square tests όπως επίσης και T-tests χρησιμοποιήθηκαν έτσι ώστε να αξιολογηθεί η επίπτωση πιθανών στατιστικά σημαντικών παραγόντων σε σχέση με τις μετεγχειρητικές επιπλοκές της γαστρεκτομής. Παράγοντες που ήταν στατιστικά σημαντικοί στο επίπεδο <0.2 συμπεριελήφθησαν στη συνέχεια σε μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης (logistic regression model). Επιδράσεις στατιστικά σημαντικές σε επίπεδο 0.05 μελετήθηκαν και αξιολογήθηκαν επίσης. Το τελικό μοντέλο προέκυψε μετά από έλεγχο για κάθε πιθανή επίδραση των αποκλεισθέντων παραμέτρων στο μονοπαραγοντικό στάδιο της ανάλυσης με τους στατιστικά σημαντικούς παράγοντες. Επιπρόσθετα οι επιδράσεις των παραμέτρων στην επιβίωση των ασθενών με καρκίνο στομάχου μετά από ριζική (R0) γαστρεκτομή εξετάσθηκαν χρησιμοποιώντας το στατιστικό μοντέλο παλινδρόμησης Cox μετά από αναλογικό έλεγχο (proportional hazards assumption). Οι παράμετροι με τιμή p-value < 0.20 χρησιμοποιήθηκαν στο μοντέλο μετά από έλεγχο [backward LR elimination ($p<0.05$)]. Πιθανές επιδράσεις ελέγχθηκαν όπως επίσης και αλλαγές στο αποτέλεσμα από προηγηθέντες μη σημαντικές στατιστικά παραμέτρους. Όλα τα στοιχεία της μελέτης αναλύθηκαν στατιστικά χρησιμοποιώντας S.P.S.S. v.18.0.

2^ο ΣΚΕΛΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ (ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΕΠΟΜΕΝΗΣ ΓΕΝΙΑΣ):

Το δεύτερο σκέλος (γενετική ανάλυση) αυτής της μελέτης έχει να κάνει με την προοπτική λήψη βιολογικών υγρών και ιστών από ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα στομάχου που αντιμετωπίστηκαν με ριζική (R0) γαστρεκτομή στην Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική των Ιωαννίνων. Η αποθήκευση των δειγμάτων αυτών έγινε στη Βιοτράπεζα του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Η λήψη βιολογικών υγρών και ιστών έγινε σύμφωνα με προδιαγραφές, οι οποίες ανταποκρίνονται σε διεθνώς αναγνωρισμένα πρότυπα ποιότητας. Οι προδιαγραφές αυτές αφορούν, κυρίως, την ασφαλή συντήρηση και επεξεργασία των βιολογικών δειγμάτων και αποτελούν εγγύηση για την ποιότητα των διενεργούμενων αναλύσεων. Βασική αρχή στη συλλογή βιολογικών υγρών είναι η χρήση τυποποιημένων τεχνικών, δηλαδή κάθε δείγμα συλλέγεται, μεταφέρεται, επεξεργάζεται και αποθηκεύεται με τον ίδιο ακριβώς τρόπο, με αυστηρό έλεγχο ποιότητας για την πρόληψη και

ανεύρεση λαθών. Στην παρούσα αποθήκευση δειγμάτων στην συγκεκριμένη Βιοτράπεζα χρησιμοποιήθηκαν οι οδηγίες του οργανισμού οικονομικής συνεργασίας και ανάπτυξης (Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD)).

ΛΗΨΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ (ΠΡΟΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΗ ΛΗΨΗ)

Οι βασικές αρχές λήψης, επεξεργασίας και αποθήκευσης βιολογικών υγρών βασίστηκαν στο πρωτόκολλο της Βρετανικής βιοτράπεζας [167]. Έχουν γίνει όμως τροποποιήσεις σ' αυτό με στόχο μεγαλύτερη λειτουργικότητα με παράλληλη διατήρηση υψηλών προδιαγραφών. Σύμφωνα με το τροποποιημένο πρωτόκολλο έγινε αιμοληψία 21 ml αίματος σε δοκιμαστικούς σωλήνες κενού (vacutainer tubes). Πλάσμα συλλέχθηκε σε σωλήνες που περιέχουν EDTA (κατάλληλο για DNA-based and protein assays), lithium heparin (για metabonomics studies), pax gene (για απομόνωση RNA) και acid citrate dextrose (απομόνωση περιφερικών λεμφοκυττάρων για δημιουργία αθάνατων (immortalized) κυτταρικών σειρών). Ορός συλλέχθηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες κενού (vacutainer tubes) με επιταχυντές δημιουργίας θρόμβου (silica ή θρομβίνη). Οι δοκιμαστικοί σωλήνες, μετά την συλλογή αίματος, ανακινήθηκαν 10 φορές έτσι ώστε να αναμιχθεί το αντιπηκτικό/συντηρητικό με το αίμα. Για την λήψη πλάσματος, το αίμα φυγοκεντρήθηκε στα 2500g για 10 λεπτά στους 4 °C. Για την λήψη ορού το αίμα αφέθηκε να πήξει για 25-30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στην συνέχεια φυγοκεντρήθηκε στα 2500g για 10 λεπτά στους 4 °C. Στην συνέχεια τα δείγματα αποθηκεύθηκαν σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες στα ειδικά ψυγεία της Βιοτράπεζας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (-80 °C).

ΛΗΨΗ ΙΣΤΩΝ (ΔΙΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΑ)

Είναι γνωστό πως η επιτυχία της μοριακής και γενετικής έρευνας και η εφαρμογή της στην ανακάλυψη κλινικών και ερευνητικών βιοδεικτών για εξατομικευμένη ιατρική και ανακάλυψη φαρμάκων εξαρτάται άμεσα από την συλλογή, τον χειρισμό και την αποθήκευση των ανθρωπίνων ιστών [168,169]. Αυτό θελήσαμε να κάνουμε και στην συγκεκριμένη μελέτη. Στην παρούσα μελέτη ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο λήψης ιστών της βιοτράπεζας του κέντρου μελέτης καρκίνου του πανεπιστημίου της Indiana, στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής [170].

Οι ιστοί ελήφθησαν αμέσως μετά την αφαίρεση του παρασκευάσματος (παρασκεύασμα υφολικής ή ολικής γαστρεκτομής) στην αίθουσα του χειρουργείου του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων σε συνεννόηση με το παθολογο-ανατομικό εργαστήριο. Όλοι οι όγκοι τοποθετήθηκαν σε ειδικά σωληνάκια. Σε απόσταση > 5 εκ. από τον όγκο ελήφθει και φυσιολογικός γαστρικός ιστός σύμφωνα με εγκεκριμένες μελέτες [171]. Οι γαστρικοί ιστοί (καρκινικοί και φυσιολογικοί) καταψύχθηκαν σε υγρό Άζωτο εντός 20-25 λεπτών από την αφαίρεση του όγκου [172]. Καρκινικοί και φυσιολογικοί γαστρικοί ιστοί μεταφέρθηκαν στη συνέχεια με ειδικό κτυίο μεταφοράς που περιείχε υγρό άζωτο και αποθηκεύθηκαν σε βαθεία κατάψυξη (-80 °C) στα ειδικά ψυγεία της Βιοτράπεζας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Πιο αναλυτικά σε αυτό το σκέλος της μελέτης μας συμπεριελήφθησαν προοπτικά 16 ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα στομάχου που υπεβλήθησαν σε ριζική (R0) γαστρεκτομή από τους οποίους συλλέχθηκαν, μεταφέρθηκαν και αποθηκεύτηκαν στη Βιοτράπεζα (BIOBANKING) τα ακόλουθα:

- 1) βιολογικά υγρά [πλάσμα και ορός (προεγχειρητική λήψη)]
- 2) φρέσκοι γαστρικοί ιστοί [καρκινικός γαστρικός ιστός και φυσιολογικός γαστρικός ιστός σε απόσταση >5 εκ από τον όγκο]

Στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 6.2) φαίνονται αναλυτικά τα κλινικά στοιχεία των 16 αυτών ασθενών από τους οποίους συλλέχθηκαν συνολικά 32 δείγματα ιστών (καρκινικοί και φυσιολογικοί γαστρικοί ιστοί) και 32 δείγματα βιολογικών υγρών (πλάσμα και ορός).

ΑΣΘ	ΦΥΛΟ/ ΗΛΙΚΙΑ	BMI	ΗΜ.Χ/ΟΥ	ΕΝΤΟΠΙΣΗ/ΤΟΙΧΩ ΜΑ/ΤΟΞΟ/ (ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ)	LN Ratio	TNM	STAGE	ΔΙΑΦΟΡΟ ΠΟΙΗΣΗ	ΤΑΞ. LAUREN
1. Τ.Σ	A/72	45,1	14/07/2011	ΣΩΜΑ/ΟΠΙΣΘΙΟ/ΜΕ ΙΖΟΝ/5,1εκ	0,56	T4N3aMX	IIIC	ΜΕΤΡΙΑ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ
2. Ζ.Κ	A/67	29,4	05/08/2011	ΣΩΜΑ/ΟΠΙΣΘΙΟ/ΜΕ ΙΖΟΝ/8Χ6 εκ	0	T4NOM1	IV	ΧΑΜΗΛΗ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ
3. Κ.Ι	A/65	28,1	13/10/2011	ΠΡΟΠΥΛΩΡΙΚΑ/ΟΠΙ ΣΘΙΟ/ΕΛΑΣΣΟΝ/5,7 Χ5,5 εκ	0,27	T3N2MX	IIIA	ΜΕΤΡΙΑ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ
4. Τ.Ο	Θ/74	29,4	26/01/2012	ΣΩΜΑ/ΟΠΙΣΘΙΟ/ΜΕ ΙΖΟΝ/2Χ1,8 εκ	0	T1bN0MX	IA	ΧΑΜΗΛΗ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ
5. Μ.Α	Θ/74	21	30/01/2012	ΠΡΟΠΥΛΩΡΙΚΑ/ΟΠΙ ΣΘΙΟ/ΜΕΙΖΟΝ/3Χ2 εκ	1	T3N2MX	IIIA	ΧΑΜΗΛΗ	ΔΙΑΧΥΤΟΣ
6. Γ.Χ	Θ/53	21,1	02/02/2012	ΠΡΟΠΥΛΩΡΙΚΑ/ΟΠΙ ΣΘΙΟ/ΜΕΙΖΟΝ/6,5Χ 4,5 εκ	0,89	T4N3b	IIIC	ΧΑΜΗΛΗ	ΔΙΑΧΥΤΟΣ/ΚΑΤΑ ΤΟΠΟΥΣ ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ (ΜΕΙΚΤΟΣ)
7. Π.Γ	A/82	26,2	29/03/2012	ΣΩΜΑ/ΠΡΟΣΘΙΟ/ΕΛ ΑΣΣΟΝ/4,4 Χ3,3 εκ	0,58	T3N3MX	IIIB	ΜΕΤΡΙΑ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ
8. Μ.Π	A/75	21	30/03/2012	ΣΩΜΑ/ΟΠΙΣΘΙΟ/ΜΕ ΙΖΟΝ/4Χ3,9 εκ	0,14	T4aN1MX	IIIA	ΧΑΜΗΛΗ	ΜΕΙΚΤΟΣ
9. Σ.Ε	Θ/80	21,5	19/04/2012	ΣΤΗΝ ΑΝΑΣΤΟΜΩΣΗ/4,3Χ 4,7 εκ	0,59	T4N3aMX	IIIC	ΧΑΜΗΛΗ	ΜΕΙΚΤΟΣ
10. Μ.Δ	A/48	23,9	21/06/2012	ΘΟΛΟΣ/ΠΡΟΣΘΙΟ/Ε ΛΑΣΣΟΝ/3,5Χ3 εκ	0,51	T3N3MX	IIIB	ΜΕΤΡΙΑΣ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ
11. Μ.Ν	A/85	28,7	20/07/2012	ΣΩΜΑ/ΠΡΟΣΘΙΟ/ΕΛ ΑΣΣΟΝ/4,9Χ4,5 εκ	0,31	T3N2bMX	IIIA	ΧΑΜΗΛΗ	ΔΙΑΧΥΤΟΣ
12. Β.Ε	Θ/85	27,1	30/07/2012	ΣΩΜΑ/ΟΠΙΣΘΙΟ/ΜΕ ΙΖΟΝ/6Χ5 εκ	0,14	T4N1M1	IV	ΧΑΜΗΛΗ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ
13. Μ.Α	Θ/78	27,1	13/08/2012	ΟΡΙΟ ΣΩΜΑ/ΑΝΤΡΟΥ/ΠΡ ΟΣΘΙΟ/ΕΛΑΣΣΟΝ/4, 2Χ3,7 εκ	0,7	T3N3MX	IIIB	ΜΕΤΡΙΑ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ
14. Β.Ε	A/68	25,2	03/01/2013	ΠΡΟΠΥΛΩΡΙΚΑ/ΠΡ ΟΣΘΙΟ/ΜΕΙΖΟΝ/3,7Χ 2,9 εκ	0,96	T4N3bMX	IIIC	ΧΑΜΗΛΗ	ΔΙΑΧΥΤΟΥ
15. Τ.Γ	Θ/75	22	07/02/2013	ΘΟΛΟΣ/ΠΡΟΣΘΙΟ/Ε ΛΑΣΣΟΝ/10Χ6,3 εκ	0,4	T4aN2MX	IIIB	ΜΕΤΡΙΑ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ
16. Κ.Δ	A/78	26,1	07/06/2013	ΠΡΟΠΥΛΩΡΙΚΑ/ΕΛΑ ΣΣΟΝ/7Χ6 εκ	1	T4aN3bMX	IIIC	ΧΑΜΗΛΗΣ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ

Πίνακας 6.2: Στοιχεία και χαρακτηριστικά ασθενών με αδενοκαρκίνωμα στομάχου από τους οποίους έγινε προοπτική συλλογή, μεταφορά και αποθήκευση στη Βιοτράπεζα του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων βιολογικών υγρών (πλάσμα, ορός) και ιστών (καρκινικός γαστρικός ιστός και φυσιολογικός γαστρικός ιστός σε απόσταση > 5 εκ. από τον όγκο)

Εν συνεχεία, αποφασίστηκε να γίνει γενετική ανάλυση με τεχνολογίες αλληλούχησης επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing) όσον αφορά το κωδικοποιούμενο τμήμα του γονιδιώματος [Next Generation Sequencing (NGS)- Whole Exome Sequencing (WES) analyses] σε 2 επιλεγμένους ασθενείς (ασθενής αρ. 7 και ασθενής αρ. 13 από τον πίνακα 6.2) για τον πιθανό προσδιορισμό γενετικών μεταλλάξεων, πιθανών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών και κυρίως για τον προσδιορισμό λίστας γονιδίων που πιθανώς να έχουν σημαντική εμπλοκή στην γαστρική καρκινογένεση.

Η επιλογή των 2 αυτών ασθενών (2 ζεύγη καρκινικών-φυσιολογικών γαστρικών ιστών) έγινε με βάση τα ακόλουθα κριτήρια (πίνακας 6.3):

- 1) Όχι μεγάλη χρονική περίοδος μεταξύ των χειρουργικών επεμβάσεων
- 2) Ο ίδιος Χειρουργός
- 3) Ίδιος τύπος γαστρεκτομής και λεμφαδενεκτομής (τροποποιημένη D2)
- 4) Ελεύθερα εγχειρητικά όρια
- 5) Ο ένας ασθενής να έχει παρουσιάσει υποτροπή της νόσου ενώ ο άλλος όχι
- 6) Ίδιο στάδιο νόσου κατά TNM
- 7) Ίδιο στάδιο κατά Lauren
- 8) Ίδιος τύπος διαφοροποίησης των νεοπλασμάτων
- 9) Her2 θετικοί όγκοι

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ	13. Μ.Α, 78 ΕΤΩΝ	7. Π.Γ, 82 ΕΤΩΝ
ΗΜ.Χ/ΟΥ	13/8/2012	29/03/2012
ΕΝΤΟΠΙΣΗ ΟΓΚΟΥ	ΟΡΙΑ ΣΩΜΑΤΟΣ/ΑΝΤΡΟΥ	ΣΩΜΑ
ΤΥΠΟΣ ΓΑΣΤΡΕΚΤΟΜΗΣ	ΣΧΕΔΟΝ ΟΛΙΚΗ ROUX EN Y	ΟΛΙΚΗ ROUX EN Y
ΤΥΠΟΣ ΛΕΜΦΑΔΕΝΕΚΤΟΜΗΣ	ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ D2	ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ D2
ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ	Ο ΙΔΙΟΣ	Ο ΙΔΙΟΣ
ΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΑ ΟΡΙΑ	ΕΛΕΥΘΕΡΑ	ΕΛΕΥΘΕΡΑ
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΥΠΟΤΡΟΠΗΣ	ΝΑΙ (ΗΠΑΡ) 05/2013	ΟΧΙ
ΧΡΟΝΙΚΟ ΔΙΑΤΗΜΑ ΕΩΣ ΤΗΝ ΥΠΟΤΡΟΠΗ	9 ΜΗΝΕΣ	-
LN RATIO	0,7	0,58
TNM	T3N3MX	T3N3MX
Lauren	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ	ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ
Her 2+	+	+
HERCEPTIN	ΝΑΙ	ΝΑΙ
ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ	ΜΕΤΡΙΑΣ	ΜΕΤΡΙΑΣ
ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΟ ΣΧΗΜΑ	Gentamycin-oxaliplatin-herceptin	Gentamycin-oxaliplatin-herceptin

Πίνακας 6.3: Χαρακτηριστικά των 2 ασθενών που επιλέχθηκαν για την γενετική ανάλυση με τεχνολογίες επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing Analyses)

Τα 4 δείγματα ιστών των 2 αυτών ασθενών (για κάθε ασθενή αναλύθηκαν 2 δείγματα ιστού: καρκινικός γαστρικός ιστός και φυσιολογικός γαστρικός ιστός σε απόσταση > 5 εκ. από τον όγκο) υπεβλήθησαν σε γενετική ανάλυση με τεχνολογίες αλληλούχησης γονιδιώματος επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing).

Οι γενετικές αναλύσεις με τεχνολογίες επόμενης γενιάς συμπεριλαμβάνουν την αλληλούχηση των γονιδίων (exome) που ονομάζεται 'αλληλούχηση του κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος' (1,5% του γονιδιώματος) [whole exome sequencing (WES)] όπως επίσης την αλληλούχηση του κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος (1,5% του γονιδιώματος) μαζί με το μη κωδικοποιούμενο τμήμα του γονιδιώματος (98,5%) που ονομάζεται 'αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος' [whole genome sequencing (WGS)] [173].

Η συγκεκριμένη μελέτη έγινε με ανάλυση του κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος των ασθενών (whole exome sequencing analyses-WES).

Εργαστήρια για την ανάλυση αυτή, που έγινε για πρώτη φορά στην Ελλάδα, δεν υπάρχουν στη χώρα μας και έτσι η ανάλυση διεκπεραιώθηκε στα εξελεγμένα, σύγχρονα εργαστήρια BGI tech στο Hong Kong (BGI TECH SOLUTIONS (HONGKONG) CO., LIMITED).

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε έχει ως εξής:

Αρχικά έγινε για κάθε δείγμα ιστού μέτρηση υλικού και ανάλυση ποσότητας και ποιότητας (Qubit, Nanodrop, Gel-Electrophotometric).

Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο των δειγμάτων (sample test methods):

A) Μέθοδος καθορισμού συγκέντρωσης δείγματος: Qubit Fluorometer, NanoDrop, Microplate Reader

B) Μέθοδος ανάλυσης επάρκειας δείγματος: Agarose Gel Electrophoresis

Οι γενικές πληροφορίες φαίνονται στην παρακάτω εικόνα 6.1

T85214010406: (ΑΣΘΕΝΗΣ 1) ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ

T85214010407: (ΑΣΘΕΝΗΣ 1) ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΓΑΣΤΡΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ

T85214010408: (ΑΣΘΕΝΗΣ 2) ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ

T85214010409: (ΑΣΘΕΝΗΣ 2) ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΓΑΣΤΡΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ

Tissue Number	Tube No.	Concentration (ng/μL)	Volume (μL)	Total Mass (μg)	Sample Integrity	Library Type	Test Result	Remark
T85214010406	1	754	502	378.508	Degraded slightly	Exome/Target Region Seq	Level A	The sample is degraded slightly.
T85214010407	1	361	396	142.956	Degraded slightly	Exome/Target Region Seq	Level A	The sample is degraded slightly.
T85214010408	1	548	368	201.664	Degraded slightly	Exome/Target Region Seq	Level A	The sample is degraded slightly.
T85214010409	1	497	103	51.191	Degraded slightly	Exome/Target Region Seq	Level A	The sample is degraded slightly.

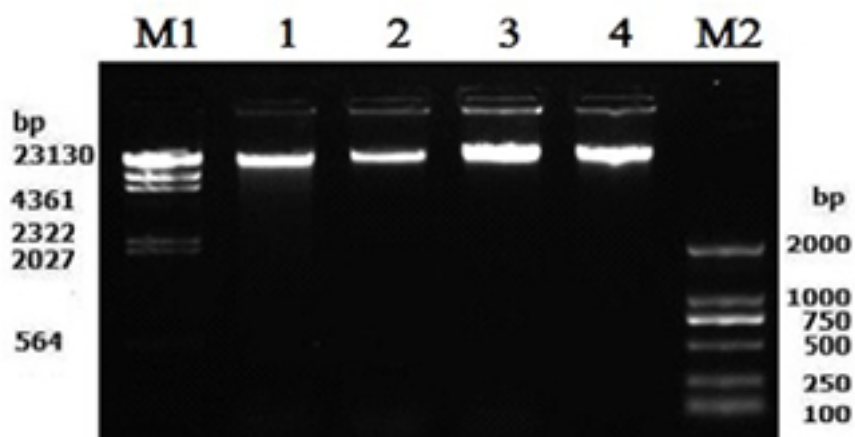
ΕΙΚΟΝΑ 6.1 Πληροφορίες δειγμάτων ιστών

Τα αποτελέσματα του ελέγχου αυτού βασίστηκαν σε διεθνείς οδηγίες ποιότητας (EXON sequencing and Genotyping sample quality standards). Όλα τα δείγματα κρίθηκαν ποιότητας A (επαρκή για ανάλυση όλου του κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος και τη δημιουργία ‘βιβλιοθηκών’ αποτελεσμάτων).

Τα δείγματα τέθηκαν σε πάγο και έπειτα φυγοκεντρήθηκαν.

Συγκέντρωση gel agarose: 1%, Χρόνος Ηλεκτροφόρησης: 45 λεπτά.

Διάγραμμα ηλεκτροφόρησης και αποτελέσματα φαίνονται αναλυτικά στην εικόνα 6.2.



ΕΙΚΟΝΑ 6.2 Διάγραμμα ηλεκτροφόρησης

Για τα 4 δείγματα ιστών διενεργήθηκαν συνοπτικά:

1. Απομόνωση του DNA
2. Δημιουργία ‘εμπλουτισμένων’ σειρών-‘βιβλιοθηκών’ (Enrichment and Library Construction)
3. Αλληλούχηση 50X με PE100
4. Standard βιοπληροφορική ανάλυση [επεξεργασία δεδομένων-alignment-εύρεση μεμονωμένων νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (single nucleotide polymorphisms-SNP)]
5. Προηγμένη καρκινική ανάλυση (cancer Advanced analyses) [εύρεση εισδοχών-διαγραφών (Insertions-Deletions-InDel), ανίχνευση σωματικών SNP/InDel για τα ζεύγη φυσιολογικών-καρκινικών γαστρικών ιστών]-ανίχνευση μεμονωμένων νουκλεοτιδικών αλλαγών (single nucleotide variations-SNV) για τα ζεύγη φυσιολογικών-καρκινικών γαστρικών ιστών, σύγκριση και φιλτράρισμα ευρημάτων με διάσημες βάσεις δεδομένων όπως το catalogue of somatic mutations in cancer (Cosmic) Database [Catalogue of somatic mutations in cancer (COSMIC) <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic> [Gastric Cancer], αλλαγές και διαφοροποιήσεις αμινοξέων, ανίχνευση σημαντικών γονιδίων (highlighted or driver genes in gastric cancer)]

6. Χρήση επόμενης γενιάς στατιστικής ανάλυσης (MutSigCV) σύμφωνα με τις τελευταίες οδηγίες της διεθνούς βιβλιογραφίας [174] για την αξιόπιστη ανίχνευση σημαντικών γονιδίων στο γαστρικό καρκίνο.

Πιο αναλυτικά:

Διενεργήθηκε ‘απομόνωση’ του κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος (exome capture) χρησιμοποιώντας το ειδικό KIT Agilent SureSelect Human All Exon 51 M και στο ‘απομονωμένο’ υλικό έγινε αλληλούχιση γονιδιώματος με τεχνολογία επόμενης γενιάς Illumina’s HiSeq PE 100. Δημιουργήθηκαν περίπου 5Gb ‘καθαρά’ δεδομένα-στοιχεία για κάθε δείγμα ιστού που αναλύθηκε.

Αξίζει να σημειωθεί ότι χαρτογραφήθηκε αναλυτικά όλο το κωδικοποιούμενο τμήμα του γονιδιώματος (whole exome sequencing) για κάθε δείγμα από τους ασθενείς μας.

7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1^ο ΣΚΕΛΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ (ΚΛΙΝΙΚΟ ΣΚΕΛΟΣ):

Ο μέσος όρος ηλικίας (standard deviation-SD) των ασθενών μας ήταν 67,4 έτη (12,231). Όσον αφορά το φύλο, 69 άντρες (66,3%) και 35 γυναίκες (33,7%) αποτέλεσαν το υλικό της μελέτης. Η μέση τιμή του δείκτη μάζας-σώματος (Body Mass Index-BMI) (SD) των ασθενών ήταν 25,24 (3,56) και η μέση τιμή της αναλογίας διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) (SD) ήταν 0,296 (0,316) (πίνακας 7.1).

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std Deviation (SD)
ΗΛΙΚΙΑ	104	26	88	67,45	12,231
ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ-ΣΩΜΑΤΟΣ (BMI)	104	16,73	45,14	25,2447	3,56800
ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΙΗΘΗΜΕΝΩΝ ΛΕΜΦΑΔΕΝΩΝ (LN ratio)	104	000	1,000	0,29665	0,316531

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.1: Περιγραφικά στατιστικά ασθενών

Οι ασθενείς της ομάδας A (BMI \geq 25-υπέρβαροι ασθενείς) παρουσίασαν υψηλότερο ποσοστό μετεγχειρητικών επιπλοκών σε σχέση με τους ασθενείς της ομάδας B (BMI<25-φυσιολογικού βάρους ασθενείς) (27,3% vs 4,2%). Πιο συγκεκριμένα, 16,4% των ασθενών της ομάδας A παρουσίασαν ελάχιστον μετεγχειρητικές επιπλοκές [διαπύση τραύματος (Clavien-Dindo i) - λοίμωξη ουροποιητικού (Clavien-Dindo ii)], ενώ το 10,9% των ασθενών παρουσίασαν μείζονες μετεγχειρητικές επιπλοκές [αναστομωτική διαφυγή (Clavien-Dindo iiib) – αιμορραγία (Clavien-Dindo iiib) – πνευμονική εμβολή (Clavien-Dindo iv)]. Όσον αφορά την ομάδα B, το 4,2% των ασθενών παρουσίασαν μείζονες μετεγχειρητικές επιπλοκές. Τα ποσοστά των επιπλοκών και οι επιπλοκές [ελάχιστον-μείζονες και κατά Clavien-Dindo ταξινόμηση (<http://www.surgicalcomplication.info/index-2.html>)] φαίνονται αναλυτικά

στους πίνακες που ακολουθούν (πίνακας 7.2 και πίνακας 7.3). Η μετεγχειρητική θνητότητα των ασθενών μας κυμάνθηκε στο 1%.

		<u>ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ</u>			
		<u>ΟΧΙ</u>		<u>ΝΑΙ</u>	
		Αριθμός	Ποσοστό %	Αριθμός	Ποσοστό %
ΦΥΛΟ	<u>ΑΝΤΡΑΣ</u>	58	84,1%	11	15,9%
	<u>ΓΥΝΑΙΚΑ</u>	29	82,9%	6	17,1%
BMI	<u>ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ – Ομάδα Β (BMI<25)</u>	46	95,8%	2	4,2%
	<u>Υπέρβαροι –Ομάδα Α (BMI ≥25)</u>	41	72,7%	15	27,3%

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.2: Ποσοστά μετεγχειρητικών επιπλοκών

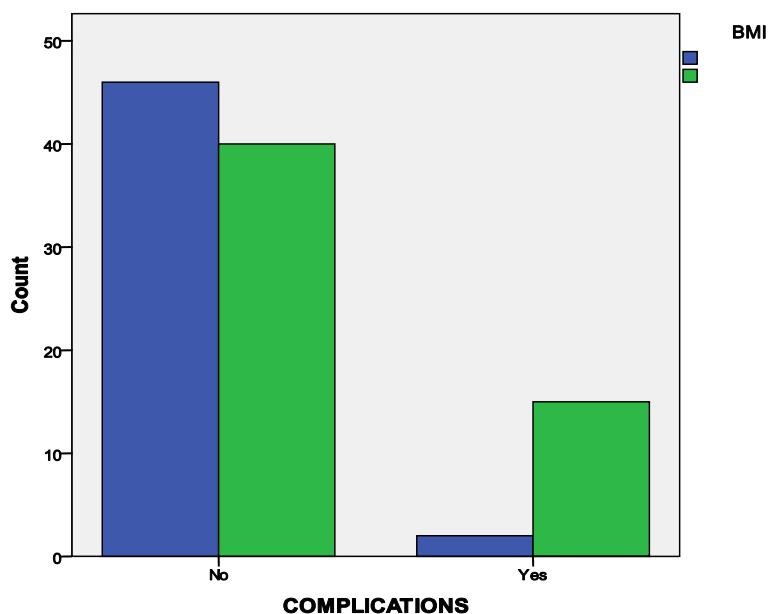
		ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ					
		ΟΧΙ		Ελάσσονες (Clavien-Dindo i,ii)		Μείζονες (Clavien-Dindo iii,iv)	
		Αριθμός	%	Αριθμός	%	Αριθμός	%
BMI	Φυσιολογικού βάρους ασθενείς-Ομάδα Β BMI<25	46	95,8%	0	0,0%	2	4,2%
						<u>Πνευμονική Εμβολή</u> (Clavien-Dindo grade: iv) (1 ασθενής) <u>Αναστομωτική διαφυγή</u> (Clavien-Dindo grade: iiib) (1 ασθενής)	
	Υπέρβαροι ασθενείς-Ομάδα Α BMI ≥25	41	72,7%	9	16,4%	6	10,9%
				<u>Λοιμώξεις ουροποιητικού</u> (Clavien-Dindo grade: ii) (3 ασθενείς) <u>Διαπυήσεις τραυμάτων</u> (Clavien-Dindo grade: i) (6 ασθενείς)		<u>Αιμορραγία</u> (Clavien-Dindo grade: iiib) (2 ασθενείς) <u>Πνευμονική εμβολή</u> (Clavien-Dindo grade: iv) (1 ασθενής) <u>Αναστομωτική διαφυγή</u> (Clavien-Dindo grade: iiib) (3 ασθενείς)	

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.3: Μείζονες και ελάσσονες μετεγχειρητικές επιπλοκές

Επιπρόσθετα, στατιστική ανάλυση διενεργήθηκε για να διερευνηθούν πιθανοί παράγοντες-κλινικοί παράμετροι που να σχετίζονται με την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπευτική γαστρεκτομή για καρκίνο στομάχου.

Η μονοπαραγοντική στατιστική ανάλυση που διενεργήθηκε δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση όσον αφορά την ηλικία των ασθενών, την εντόπιση της νόσου, το στάδιο κατά TNM, την διαφοροποίηση των νεοπλασμάτων, το κατά Lauren στάδιο, την παρουσία περινευρικής και αγγειακής διήθησης, τον αριθμό των εξαιρεθέντων λεμφαδένων στο παρασκευάσμα, την αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) και την παρουσία μετεγχειρητικών επιπλοκών στη δική μας μελέτη. Όλοι αυτοί οι παράμετροι που ελέγχθηκαν στην παρούσα μελέτη δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές τιμές ($p > 0,05$).

Αντιθέτως, αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ ασθενών με υψηλό δείκτη μάζας σώματος (BMI) και την πιθανότητα εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από χειρουργείο για καρκίνο στομάχου ($p = 0,002$) (πίνακας 7.4).



Πίνακας 7.4: Δείκτης μάζας-σώματος (BMI) και μετεγχειρητικές επιπλοκές (Πράσινο χρώμα: Υπέρβαροι ασθενείς-Μπλε χρώμα:φυσιολογικού βάρους ασθενείς)

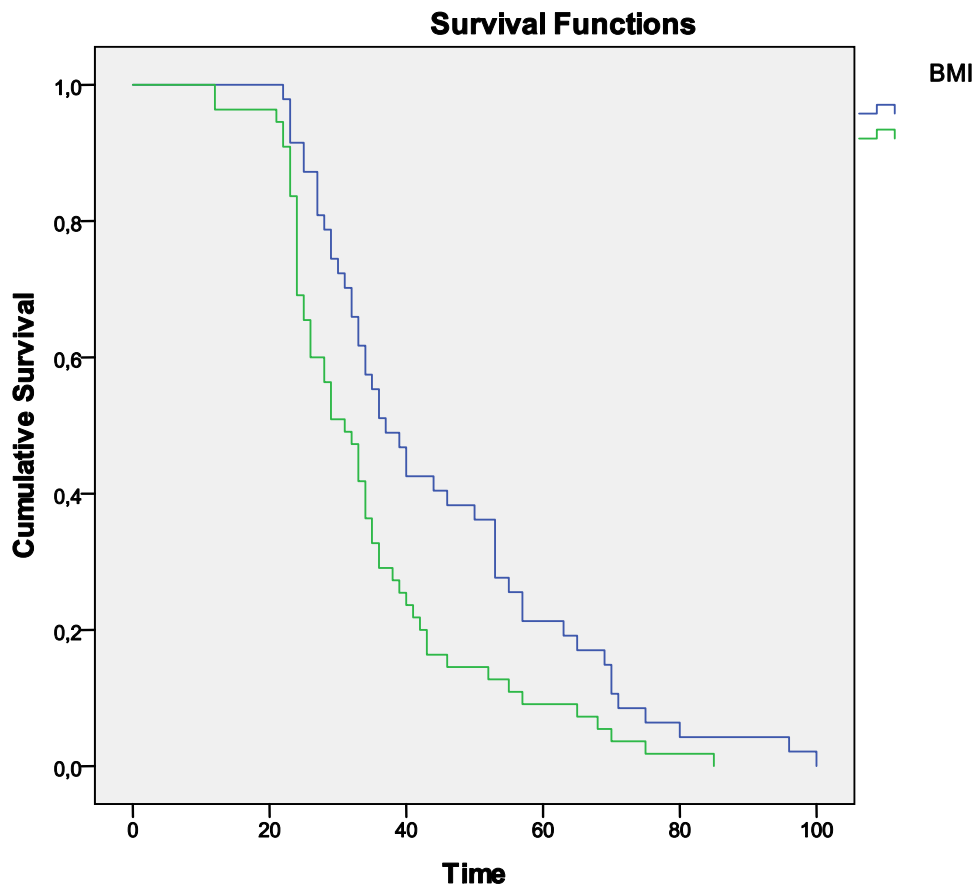
Στη συνέχεια, διενεργήθηκε πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση. Η ανάλυση αυτή επιβεβαίωσε την στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα σε ασθενείς με υψηλό δείκτη μάζας-σώματος ($BMI \geq 25$) και την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών σε ασθενείς που χειρουργήθηκαν για καρκίνο στομάχου ($p=0,004$). Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι από τη μελέτη μας προέκυψε ότι η μέγιστη διάμετρος του νεοπλάσματος (Max tumor diameter) αναδείχθηκε να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πιθανότητα εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών στη σειρά μας ($p=0,027$). Πρέπει επίσης να τονίσουμε ότι κανένας άλλος παράγοντας που μελετήθηκε στην πολυπαραγοντική ανάλυση δεν αναδείχθηκε να έχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πιθανότητα εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από χειρουργείο για καρκίνο στομάχου ($p>0,05$ -πίνακας 7.5)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ	ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ (p values)
<u>Δείκτης μάζας-σώματος (BMI)</u>	<u>,004</u>
<u>Ηλικία</u>	<u>,449</u>
<u>Αναλογία διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio)</u>	<u>,433</u>
<u>Φύλο</u>	<u>,166</u>
<u>Εντόπιση όγκου</u>	<u>,742</u>
<u>Στάδιο νόσου</u>	<u>,953</u>
<u>Διαφοροποίηση</u>	<u>,419</u>
<u>Τύπος κατά Lauren</u>	<u>,276</u>
<u>Περινευρική και αγγειακή δήθηση</u>	<u>,092</u>
<u>Μέγιστη διάμετρος νεοπλάσματος</u>	<u>,027</u>

Πίνακας 7.5: Μελέτη κλινικών παραμέτρων σε σχέση με την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου

Επιπρόσθετα, στη συγκεκριμένη μελέτη διενεργήθηκε μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης με στόχο την επιβεβαίωση ήδη γνωστών προγνωστικών παραγόντων καθώς και τον προσδιορισμό-ανάδειξη νέων προγνωστικών παραγόντων στον καρκίνο του στομάχου.

Η μελέτη μας ανέδειξε ότι ο δείκτης μάζας-σώματος (BMI) διαδραματίζει σημαντικό προγνωστικό ρόλο όσον αφορά την επιβίωση μακράς διάρκειας ασθενών με εξαιρεσιμό καρκίνο στομάχου. Η παρακάτω ανάλυση (Cox regression) ανέδειξε τη στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα σε ασθενείς με υψηλό δείκτη μάζας σώματος και φτωχή επιβίωση μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή για καρκίνο στομάχου ($p=0,005$) (Γράφημα 7.1).



Γράφημα 7.1: Συγκριτικές καμπύλες επιβίωσης για φυσιολογικού βάρους ($BMI < 25$) (μπλε γραμμή) και υπέρβαρους ($BMI \geq 25$) (πράσινη γραμμή) ασθενείς με καρκίνο στομάχου

Επιπλέον, από την πολυπαραγοντική ανάλυση που διενεργήθηκε στην προσπάθεια ανεύρεσης ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων επιβίωσης, προέκυψε ότι εκτός από τον δείκτη μάζας σώματος (BMI) ($p=,005$) των ασθενών, η ηλικία των ασθενών ($p=0,001$) και η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) ($p=0,000$) αποτελούν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες επιβίωσης σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου (πίνακας 7.6).

Επιπρόσθετα πρέπει να αναφερθεί ότι οι υπόλοιποι παράμετροι-παράγοντες που συμπεριελήφθησαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση για τον προσδιορισμό ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων, δεν αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικοί και φαίνονται αναλυτικά στον πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 7.6)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ	ΕΠΙΒΙΩΣΗ (p values)
<u>Δείκτης μάζας-σώματος (BMI)</u>	<u>,005</u>
<u>Ηλικία</u>	<u>,001</u>
<u>Αναλογία διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio)</u>	<u>,000</u>
Φύλο	,289
Εντόπιση όγκου	,807
Τελικό στάδιο νόσου	,425
Διαφοροποίηση	,328
Τύπος κατά Lauren	,323
Περινευρική-αγγειακή διήθηση	,728
Μέγιστη διάμετρος νεοπλάσματος	,940

Πίνακας 7.6: Πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης ασθενών με καρκίνο στομάχου

Από την άλλη πλευρά, αξίζει να αναφερθεί ότι η μονοπαραγοντική στατιστική ανάλυση σε σχέση με την επιβίωση των ασθενών, ανέδειξε στατιστική σημαντική συσχέτιση του τελικού σταδίου της νόσου ($p=0,000$), της παρουσίας περινευρικής και αγγειακής διήθησης ($p=0,000$) και της μέγιστης διαμέτρου του νεοπλάσματος ($p=0,020$) με την επιβίωση των ασθενών μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή για καρκίνο στομάχου. Παράλληλα, πρέπει να τονιστεί ότι άγγιξε το όριο της στατιστικής σημαντικότητας στη μελέτη μας μετά από την μονοπαραγοντική στατιστική ανάλυση, η διαφοροποίηση των νεοπλασμάτων σε σχέση με την επιβίωση των ασθενών ($p=0,062$) με καθαρή υπεροχή της καλύτερης επιβίωσης σε ασθενείς με καλής-υψηλής διαφοροποίησης νεοπλάσματα.

Πιο λεπτομερώς, πρέπει να δωθεί ιδιαίτερη βαρύτητα στο γεγονός ότι:

-Οι υπέρβαροι ασθενείς (ομάδα Α) στην παρούσα μελέτη είχαν ανά πάσα στιγμή πιθανότητες (hazard ratio) φτωχής επιβίωσης μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή διπλάσιες σε σύγκριση με τους φυσιολογικού βάρους ασθενείς (ομάδα Β) [(HR=2.164, 95% C.I (1,262 – 3,712)), $p=0,005$].

-Επιπρόσθετα, από την παρούσα μελέτη προέκυψε ότι για κάθε αύξηση της τάξης του 0,1 της αναλογίας των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) των ασθενών με καρκίνο στομάχου, οι πιθανότητες (hazard ratio) φτωχής επιβίωσης αυξάνονται κατά 93%. [(HR=9.313, 95% C.I (4,222 – 20,542)), $p=0.000$].

2^ο ΣΚΕΛΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ [ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΕΠΟΜΕΝΗΣ ΓΕΝΙΑΣ-ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ (NEXT GENERATION WHOLE EXOME SEQUENCING ANALYSES)]:

Το DNA που απομονώθηκε (extracted DNA) ‘επεξεργάστηκε’ με PCR [amplification by ligation-mediated PCR (LM-PCR)], αναλύθηκε και έγινε υβριδισμός με SureSelect Biotiny lated RNA Library (BAITS). Τα απομονωμένα προϊόντα της LM-PCR υπεβλήθησαν σε ανάλυση με Agilent 2100 Bioanalyzer έτσι ώστε να εκτιμηθεί το μέγεθος της εμπλούτισης (enrichment). Κάθε απομονωμένη ‘βιβλιοθήκη’ αποτελεσμάτων (captured library) τοποθετήθηκε έπειτα στην ειδική πλατφόρμα επόμενης γενιάς γενετικής ανάλυσης HiSeq2000, και διενεργήθηκε έπειτα υψηλής επεξεργασίας αλληλούχηση για κάθε απομονωμένη ‘βιβλιοθήκη’ έτσι ώστε να πιστοποιηθεί ότι κάθε δείγμα πληρεί

τα επιθυμητά κριτήρια βάθους-έκτασης αλληλούχησης (average sequencing depth). Επιπρόσθετα, χρησιμοποιήθηκαν ειδικά πρωτοποριακά συστήματα βιοπληροφορικής ανάλυσης (Raw image files were processed by Illumina basecalling Software 1.7 for base-calling with default parameters and the sequences of each individual were generated as 90/100bp pair-end reads).

Η προηγμένη βιοπληροφορική ανάλυση οδήγησε στην ανάλυση, στον ‘καθαρισμό’ χαμηλής ποιότητας αναλύσεων και στη δημιουργία των ‘καθαρών’ αποτελεσμάτων (clean data-Illumina pipeline). Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε το σύστημα ανάλυσης Burrows-Wheeler Aligner [(BWA) alignment system]. Έτσι δημιουργήθηκαν τα αρχεία BWA (BAM format files). Αυτά τα αρχεία ήταν απαραίτητα για να γίνουν κάποιες διεργασίες όπως να αφαιρεθούν επαναλαμβανόμενα αποτελέσματα που οφείλονταν στην PCR. Στη συνέχεια τα αρχεία BAM χρησιμοποιήθηκαν για να παράγουν τα αποτελέσματα των μεταλλάξεων στα δείγματα των ασθενών μας.

Γενικά οι μεταλλάξεις στον καρκίνο μπορούν να είναι σωματικές (περιβαλλοντικοί παράγοντες) και κληρονομούμενες. Οι καίριες μεταλλάξεις (point mutations) στον καρκίνο μπορούν να οφείλονται σε ‘αντικατάσταση’ (gene substitution-single nucleotide polymorphisms-SNPs) ή σε εισδοχή-διαγραφή (insertions-deletions-indels). Οι δομικές γονιδιακές μεταλλάξεις μπορεί να είναι αλλαγές στην αντιγραφή (copy number alterations-CAN) ή γονιδιακές ανακατατάξεις (genomic rearrangements).

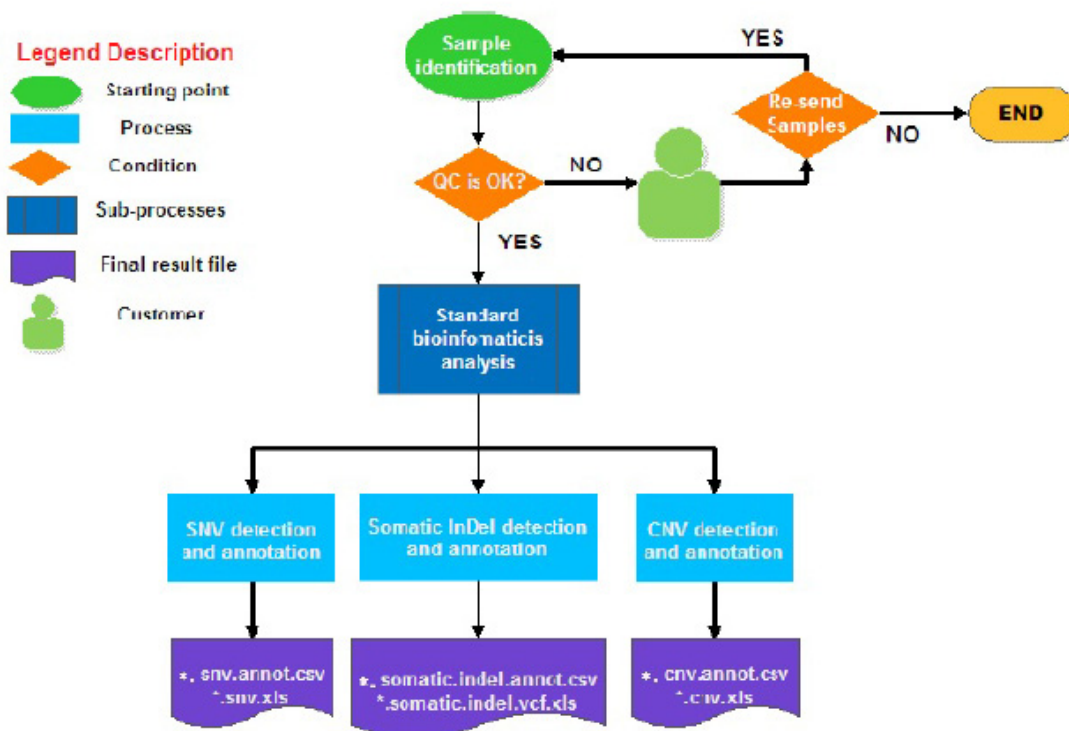
Οι μεμονωμένοι γονιδιακοί πολυμορφισμοί [Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)] παρήχθησαν στην μελέτη μας με τα ειδικά συστήματα SOAPsnp SAMtools και GATK. Μετά από αυτό χρησιμοποιήθηκαν και άλλα ειδικά φίλτρα προηγμένης πληροφορικής ανάλυσης για να ελεγχθεί η ορθότητα των αποτελεσμάτων μας (software AnnoDB).

Προηγμένη βιοπληροφορική καρκινική ανάλυση (Cancer Advanced Bioinformatics Analysis)

Αρχικά η πρόωμη επεξεργασία για τα ζεύγη καρκινικού-φυσιολογικού γαστρικού ιστού βασίστηκαν σε Mass ARRAY. Μετά από την Standard βιοπληροφορική ανάλυση, οι μεμονωμένες σωματικές νουκλεοτιδικές διαφοροποιήσεις [somatic Single Nucleotide Variants (SNVs)] ανιχνεύθηκαν με πρόγραμμα VarScan και οι εισδοχές/διαγραφές [Insertion/Deletion (InDels)] ανιχνεύθηκαν με τα

προγράμματα SAM ή GATK. Επιπρόσθετα, οι αντιγραφές των βάσεων του κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος [exome Copy Number Variants (CNVs)] ανιχνεύθηκαν στην μελέτη μας με πρόγραμμα Exome CNV.

Έπειτα, μερικά ειδικά φίλτρα εφαρμόστηκαν έτσι ώστε να παραχθούν τα πιο αξιόπιστα και ακριβή αποτελέσματα. Στη συνέχεια ειδικά προγράμματα AnnoDB χρησιμοποιήθηκαν έτσι ώστε να ανευρεθούν ασφαλή όρια των αποτελεσμάτων (confident variant results). Ο έλεγχος ποιότητας, και η σύνοψη των αποτελεσμάτων της προηγμένης αυτής καρκινικής ανάλυσης φαίνεται στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 7.2)



Γράφημα 7.2: Σχεδιάγραμμα παραγωγής αποτελεσμάτων της γενετικής ανάλυσης με τεχνολογίες επόμενης γενιάς

Αποτελέσματα προηγμένης βιοπληροφορικής ανάλυσης

Τα ακόλουθα γραφήματα-πίνακες αποτελούν τα τελικά αποτελέσματα του ελέγχου ποιότητας των δειγμάτων μας.

ΑΣΘΕΝΗΣ 1-ΔΕΙΓΜΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Data Statistics

Type	Raw data	Clean data
Number of Reads	85997022	82771988
Data Size	8599702200	8277198800
N of fq1	185332	137813
N of fq2	188950	164191
GC(%) of fq1	48.38	48.25
GC(%) of fq2	48.48	48.31
Q20(%) of fq1	97.29	93.08
Q20(%) of fq2	94.89	97.01
Q30(%) of fq1	92.54	93.58
Q30(%) of fq2	89.53	91.70
Discard Reads related to N		5868
Discard Reads related to low qual		2762514
Discard Reads related to Adapter		456632
Clean data/Raw data		96.25%

ΑΣΘΕΝΗΣ 1-ΔΕΙΓΜΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Data Statistics

Type	Raw data	Clean data
Number of Reads	92413578	89029220
Data Size	9241357800	8902922000
N of fq1	198922	147780
N of fq2	205749	177877
GC(%) of fq1	47.89	47.76
GC(%) of fq2	48.03	47.86
Q20(%) of fq1	97.33	98.09
Q20(%) of fq2	95.10	97.15
Q30(%) of fq1	92.66	93.65
Q30(%) of fq2	89.90	91.99
Discard Reads related to N		6356
Discard Reads related to low qual		2881218
Discard Reads related to Adapter		496784
Clean data/Raw data		96.34%

ΑΣΘΕΝΗΣ 2 –ΔΕΙΓΜΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Data Statistics

Type	Raw data	Clean data
Number of Reads	79555354	76722216
Data Size	7955535400	7672221600
N of fq1	170896	126864
N of fq2	176030	152390
GC(%) of fq1	48.12	47.96
GC(%) of fq2	48.25	48.06
Q20(%) of fq1	97.30	98.05
Q20(%) of fq2	95.14	97.11
Q30(%) of fq1	92.54	93.53
Q30(%) of fq2	89.86	91.86
Discard Reads related to N		5494
Discard Reads related to low qual		2407230
Discard Reads related to Adapter		420414
Clean data/Raw data		96.44%

ΑΣΘΕΝΗΣ 2-ΔΕΙΓΜΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Data Statistics

Type	Raw data	Clean data
Number of Reads	92751736	89389912
Data Size	9275173600	8938991200
N of fq1	200108	148003
N of fq2	205711	177874
GC(%) of fq1	48.27	48.14
GC(%) of fq2	48.37	48.2
C20(%) of fq1	97.29	98.06
C20(%) of fq2	95.03	97.08
C30(%) of fq1	92.54	93.55
C30(%) of fq2	89.73	91.83
Discard Reads related to N		6562
Discard Reads related to low qual		2897024
Discard Reads related to Adapter		458238
Clean data/Raw data		96.38%

Στατιστική ανάλυση και Διακύμανση (Statistics and Distribution)

Η διακύμανση για κάθε βάση του ‘βάθους’ αλληλούχησης και η διακύμανση του συνολικού ‘βάθους’ αλληλούχησης για κάθε δείγμα φαίνεται παρακάτω. Η διακύμανση για κάθε βάση του ‘βάθους’ αλληλούχησης ακολούθησε περίπου τη διακύμανση τύπου Poisson.

Ο άξονας X αντιπροσωπεύει το ‘βάθος’ αλληλούχησης και ο άξονας y υποδεικνύει το ποσοστό της συνολικής περιοχής στόχου κάτω από ένα συγκεκριμένο ‘βάθος’ αλληλούχησης.

Παράλληλα, σε μια συνολική μέτρηση διακύμανσης ‘βάθους’ αλληλούχησης, ο άξονας X αντιπροσωπεύει το ‘βάθος’ της αλληλούχησης και ο άξονας y υποδεικνύει το τμήμα-ποσοστό των βάσεων που αγγίζουν ή υπερέχουν το καθορισμένο ‘βάθος’ αλληλούχησης.

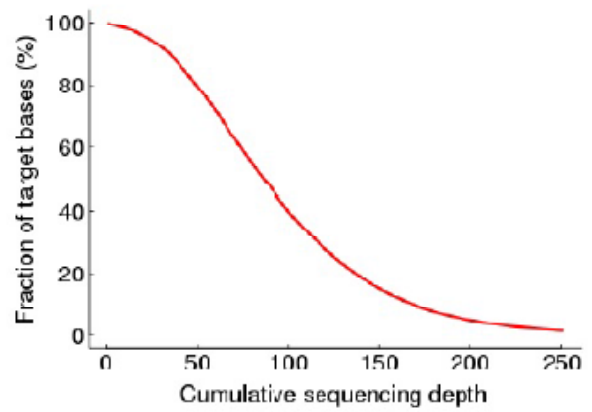
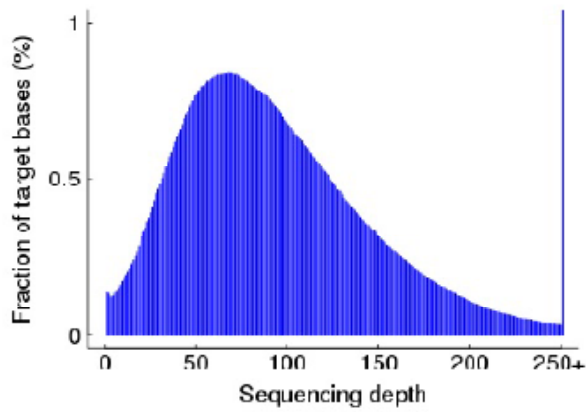
Πιο αναλυτικά,

ΑΣΘΕΝΗΣ 1-ΔΕΙΓΜΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Alignment statistics

Capture Statistics	Value	Capture Statistics	Value
Initial bases on target	51189318	Average sequencing depth near target	20.50
Initial bases near target	69797365	Mismatch rate in target region	0.18%
Initial bases on or near target	120986683	Mismatch rate in all effective sequence	0.18%
Total effective reads	77443802	Base covered on target	51015696
Total effective yield(Mb)	7662.39	Coverage of target region	99.7%
Average read length(bp)	98.94	Base covered near target	68423743
Effective sequences on target(Mb)	4947.79	Coverage of flanking region	98.0%
Effective sequences near target(Mb)	1430.68	Fraction of target covered with at least 20x	96.0%
Effective sequences on or near target(Mb)	6378.47	Fraction of target covered with at least 10x	98.4%
Number of reads uniquely mapped to target	57490003	Fraction of target covered with at least 4x	99.3%
Number of reads uniquely mapped to genome	75554241	Fraction of flanking region covered with at least 20x	36.7%
Fraction of effective bases on target	64.6%	Fraction of flanking region covered with at least 10x	61.9%
Fraction of uniquely mapped on target	76.1%	Fraction of flanking region covered with at least 4x	87.1%
Fraction of effective bases on or near target	83.2%	Mapping rate	99.60%
Average sequencing depth on target	96.66	Duplicate rate	6.07%

Depth distribution

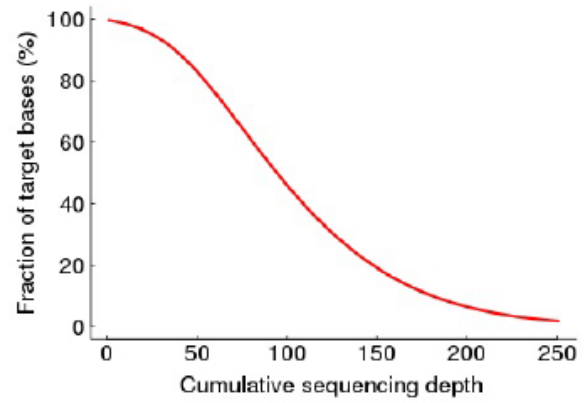
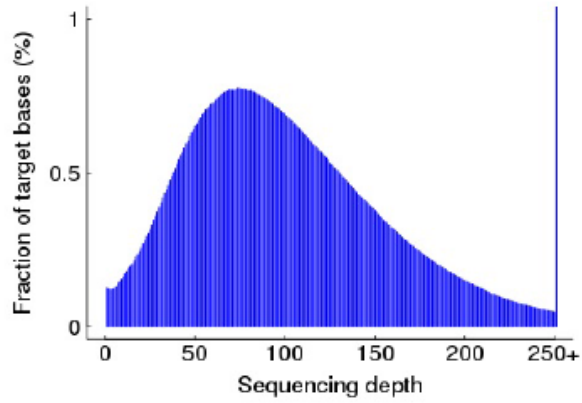


ΑΣΘΕΝΗΣ 1-ΔΕΙΓΜΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Alignment statistics

Capture Statistics	Value	Capture Statistics	Value
Initial bases on target	51189318	Average sequencing depth near target	21.77
Initial bases near target	69797365	Mismatch rate in target region	0.18%
Initial bases on or near target	120986683	Mismatch rate in all effective sequence	0.18%
Total effective reads	84691221	Base covered on target	51016997
Total effective yield(Mb)	8381.75	Coverage of target region	99.7%
Average read length(bp)	98.97	Base covered near target	68590299
Effective sequences on target(Mb)	5275.31	Coverage of flanking region	98.3%
Effective sequences near target(Mb)	1519.26	Fraction of target covered with at least 20x	96.4%
Effective sequences on or near target(Mb)	6794.57	Fraction of target covered with at least 10x	98.5%
Number of reads uniquely mapped to target	61353876	Fraction of target covered with at least 4x	99.3%
Number of reads uniquely mapped to genome	82633264	Fraction of flanking region covered with at least 20x	39.4%
Fraction of effective bases on target	62.9%	Fraction of flanking region covered with at least 10x	64.1%
Fraction of uniquely mapped on target	74.2%	Fraction of flanking region covered with at least 4x	88.3%
Fraction of effective bases on or near target	81.1%	Mapping rate	99.58%
Average sequencing depth on target	103.05	Duplicate rate	4.47%

Depth distribution



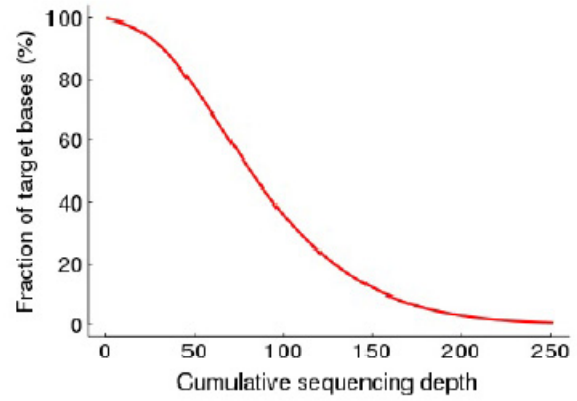
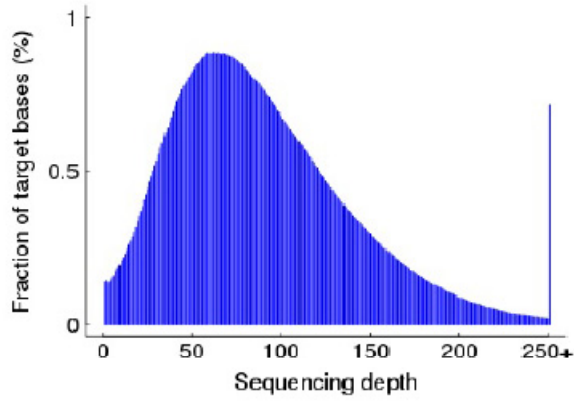
ΑΣΘΕΝΗΣ 2-ΔΕΙΓΜΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Alignment statistics

Capture Statistics	Value
Initial bases on target	51189318
Initial bases near target	69797365
Initial bases on or near target	120986683
Total effective reads	73744461
Total effective yield(Mb)	7296.49
Average read length(bp)	98.94
Effective sequences on target(Mb)	4574.45
Effective sequences near target(Mb)	1351.42
Effective sequences on or near target(Mb)	5925.87
Number of reads uniquely mapped to target	53298324
Number of reads uniquely mapped to genome	71977285
Fraction of effective bases on target	62.7%
Fraction of uniquely mapped on target	74.0%
Fraction of effective bases on or near target	81.2%
Average sequencing depth on target	89.36

Capture Statistics	Value
Average sequencing depth near target	19.36
Mismatch rate in target region	0.18%
Mismatch rate in all effective sequence	0.18%
Base covered on target	51071436
Coverage of target region	99.8%
Base covered near target	68523469
Coverage of flanking region	98.2%
Fraction of target covered with at least 20x	95.6%
Fraction of target covered with at least 10x	98.3%
Fraction of target covered with at least 4x	99.3%
Fraction of flanking region covered with at least 20x	35.5%
Fraction of flanking region covered with at least 10x	61.0%
Fraction of flanking region covered with at least 4x	87.0%
Mapping rate	99.58%
Duplicate rate	3.48%

Depth distribution

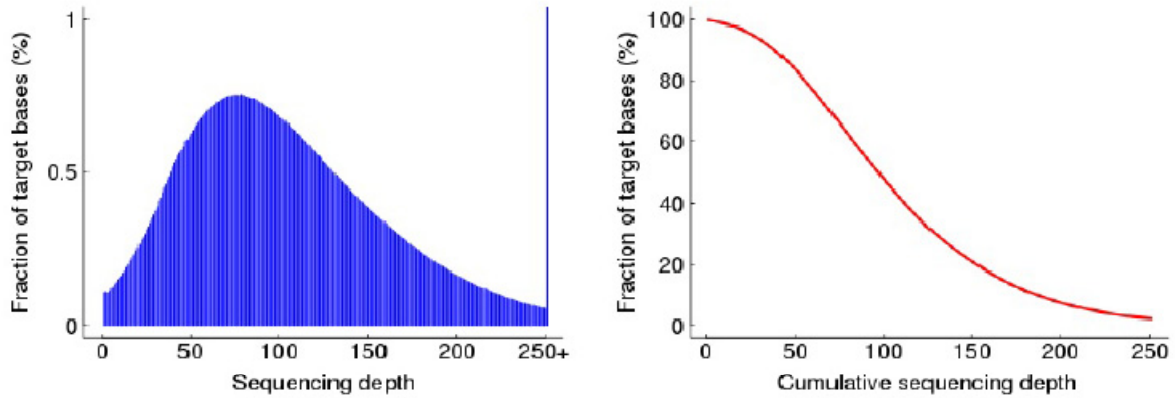


ΑΣΘΕΝΗΣ 2-ΔΕΙΓΜΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Alignment statistics

Capture Statistics		Value	
Initial bases on target		51189318	
Initial bases near target		69797365	
Initial bases on or near target		120986683	
Total effective reads		83771814	
Total effective yield(Mb)		8290.02	
Average read length(bp)		98.96	
Effective sequences on target(Mb)		5418.18	
Effective sequences near target(Mb)		1568.59	
Effective sequences on or near target(Mb)		6986.77	
Number of reads uniquely mapped to target		63059889	
Number of reads uniquely mapped to genome		81773344	
Fraction of effective bases on target		65.4%	
Fraction of uniquely mapped on target		77.1%	
Fraction of effective bases on or near target		84.3%	
Average sequencing depth on target		105.85	
Capture Statistics		Value	
Average sequencing depth near target		22.47	
Mismatch rate in target region		0.18%	
Mismatch rate in all effective sequence		0.18%	
Base covered on target		51078041	
Coverage of target region		99.8%	
Base covered near target		68614551	
Coverage of flanking region		98.3%	
Fraction of target covered with at least 20x		96.7%	
Fraction of target covered with at least 10x		98.7%	
Fraction of target covered with at least 4x		99.5%	
Fraction of flanking region covered with at least 20x		40.6%	
Fraction of flanking region covered with at least 10x		64.9%	
Fraction of flanking region covered with at least 4x		88.4%	
Mapping rate		99.64%	
Duplicate rate		5.94%	

Depth distribution



Ανάλυση μεμονωμένων νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (single nucleotide polymorphisms-SNPs)

Από τα πιο σημαντικά σημεία της συγκεκριμένης γενετικής ανάλυσης είναι η ανεύρεση μεμονωμένων νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών στα δείγματα των ασθενών μας. Οι μεμονωμένοι νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί [Single Nucleotide Polymorphisms (SNP)] ορίζονται ως μια διαφοροποίηση-αλλαγή-αντικατάσταση στην αλληλουχία του DNA που δημιουργείται όταν ένα μεμονωμένο νουκλεοτίδιο δηλαδή -A, T, C ή G- διαφέρει ανάμεσα στα δείγματα/ασθενείς. Ο παρακάτω πίνακας (πίνακας 7.6) είναι επεξήγηση των αποτελεσμάτων που θα ακολουθήσουν όσον αφορά τους μεμονωμένους νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς στην μελέτη μας.

No.	Label	Description-Περιγραφή
1	Total	Ολικός αριθμός SNPs (Total number of SNPs)
2	1000genome and dbsnp	Αριθμός SNPs που έχουν ήδη δημοσιευθεί σε γνωστές βάσεις δεδομένων (Number of SNPs which have been published in the dbsnp database and 1000genome database)
3	1000genome specific	Αριθμός SNPs που έχουν δημοσιευθεί στη συγκεκριμένη βάση δεδομένων (Number of SNPs which have been published in the 1000genome database specific)
4	dbSNP specific	Αριθμός SNPs που έχουν δημοσιευθεί στη συγκεκριμένη βάση δεδομένων (Number of SNPs which have been published in the dbSNP database specific)
5	dbSNP rate (%)	Αριθμός SNPs από τη βάση δεδομένων dbSNP/του ολικού αριθμού των SNPs (The number of SNPs in dbSNP database divided by the total number of SNPs)
6	Novel	Αριθμός SNPs (καινούριοι πολυμορφισμοί) που ανιχνεύθηκαν στη δική μας μελέτη και που δεν υπάρχουν σε καμία γνωστή βάση δεδομένων (Number of SNPs which we found but not found in the known databases)
7	Hom	Number of Homozygous SNPs
8	Het	Number of Heterozygous SNPs
9	Synonymous	Number of synonymous mutation SNPs
10	Missense	Number of missense mutation SNPs
11	Stopgain	Number of stopgain mutation SNPs
12	Stoploss	Number of stoploss mutation SNPs
13	Startgain	Number of startgain mutation SNPs
14	Startloss	Number of startloss mutation SNPs
15	Exonic	Number of SNPs in exonic region
16	Splicing	Number of SNPs in Splicing region
17	NcRNA	Number of SNPs in NcRNA region
18	UTR5	Number of SNPs in the 5' UTR
19	UTR3	Number of SNPs in the 3' UTR
20	Intronic	Number of SNPs in the intron region
21	Upstream	Number of SNPs in upstream
22	Downstream	Number of SNPs in downstream
23	Intergenic	Number of SNPs in intergenic region
24	SIFT	Number of SNPs which SIFT score is less than 0.05.
25	Ti/Tv	Total number of transition SNPs/Total number of transversion SNPs
26	dbSNP Ti/Tv	Number of transition SNPs which have been published in dbSNP database/ Number of transversion SNPs which have been published in dbSNP database
27	Novel Ti/Tv	Number of novel transition SNPs/ Number of novel transversion SNPs

Πίνακας 7.6: Επεξηγηματικός πίνακας των αποτελεσμάτων των μεμονωμένων νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs)

Έτσι παρακάτω παρατίθενται τα αποτελέσματα της μελέτης μας όσον αφορά τους μεμονωμένους νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (single nucleotide polymorphisms-SNPs)

ΑΣΘΕΝΗΣ 1- ΔΕΙΓΜΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

SNPs statistics

Categories	Value	Categories	Value
Total	87236	Exonic	18917
1000genome and dbsnp	84912	Splicing	50
1000genome specific	6	ncRNA	637
dbSNP specific	1306	UTR5	1591
dbSNP rate	98.83%	UTR3	3383
Novel	1012	Intronic	56980
Hom	38287	Upstream	1574
Het	48949	Downstream	1068
Synonymous	10132	Intergenic	3036
Missense	8681	SIFT	1588
Stopgain	60	Ti/Tv	2.4349
Stoploss	27	dbSNP Ti/Tv	2.4390
Startgain	282	Novel Ti/Tv	2.1235
Startloss	17		

ΑΣΘΕΝΗΣ 1-ΔΕΙΓΜΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

SNPs statistics

Categories	Value	Categories	Value
Total	88693	Exonic	18930
1000genome and dbsnp	86481	Splicing	48
1000genome specific	5	ncRNA	637
dbSNP specific	1311	UTR5	1588
dbSNP rate	98.99%	UTR3	3416
Novel	896	Intronic	50200
Hom	38521	Upstream	1641
Het	50172	Downstream	1081
Synonymous	10166	Intergenic	3069
Missense	8664	SIFT	1577
Stopgain	56	Ti/Tv	2.4234
Stoploss	27	dbSNP Ti/Tv	2.4258
Startgain	284	Novel Ti/Tv	2.2115
Startloss	17		

ΑΣΘΕΝΗΣ 2-ΔΕΙΓΜΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

SNPs statistics

Categories	Value	Categories	Value
Total	88896	Exonic	19952
1000genome and dbsnp	84795	Splicing	55
1000genome specific	6	NcRNA	651
dbSNP specific	1397	UTR5	1618
dbSNP rate	96.96%	UTR3	3346
Novel	2698	Intronic	57620
Hom	37434	Upstream	1626
Het	51462	Downstream	1112
Synonymous	10513	Intergenic	2916
Missense	9296	SIFT	1867
Stopgain	105	Ti/Tv	2.4555
Stoploss	24	dbSNP Ti/Tv	2.4503
Startgain	276	Novel Ti/Tv	2.6312
Startloss	14		

ΑΣΘΕΝΗΣ 2-ΔΕΙΓΜΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

SNPs statistics

Categories	Value	Categories	Value
Total	89196	Exonic	18872
1000genome and dbsnp	87003	Splicing	46
1000genome specific	5	NcRNA	647
dbSNP specific	1313	UTR5	1626
dbSNP rate	99.01%	UTR3	3389
Novel	875	Intronic	58899
Hom	38005	Upstream	1669
Het	51191	Downstream	1117
Synonymous	10172	Intergenic	2931
Missense	8605	SIFT	1549
Stopgain	60	Ti/Tv	2.4166
Stoploss	22	dbSNP Ti/Tv	2.4174
Startgain	286	Novel Ti/Tv	2.3397
Startloss	13		

Ανάλυση αποτελεσμάτων εισδοχών-διαγραφών (Insertions/Deletions-InDels)

Χρησιμοποιήθηκαν στην συγκεκριμένη μελέτη τα ακόλουθα softwares (GATK and SAM) έτσι ώστε να ανιχνευθούν οι εισδοχές-διαγραφές (InDels). Πρέπει να τονιστεί ότι μια μετάλλαξη τύπου InDel σημαίνει ότι υπάρχει μια εισδοχή ή διαγραφή νουκλεοτιδίου από μια αλληλουχία ενώ οι ‘καίριες’ μεταλλάξεις (point mutation) αποτελούν μια αντικατάσταση ενός νουκλεοτιδίου με άλλο νουκλεοτίδιο χωρίς να αλλάζει ο συνολικός αριθμός των νουκλεοτιδίων στο DNA.

Μετά την ανίχνευσή τους, χρησιμοποιήθηκε το σύστημα AnnoDB έτσι ώστε να γίνει ορθή ταξινόμηση των αποτελεσμάτων της μελέτης μας.

Πρέπει να αναφερθεί εδώ ότι ο όρος InDel αποτελεί έναν μοριακό βιολογικό όρο που σε μελέτες που αφορούν σωματικές μεταλλάξεις (όπως η δική μας) περιγράφει μια ειδική κατηγορία μεταλλάξεων, που ορίζονται ως μια μετάλλαξη που καταλήγει σε μια εντοπισμένη εισδοχή ή διαγραφή και επακόλουθο ‘κέρδος’ ή ‘απώλεια’ σε νουκλεοτίδια και microindel ορίζεται ως ένα indel που καταλήγει σε ένα καθορισμένο ‘κέρδος’ ή σε μια καθορισμένη απώλεια ενός έως 50 νουκλεοτιδίων.

Στην παρούσα μελέτη αναλύθηκε και ανιχνεύθηκε επίσης το εύρος διάταξης (length distribution) για κάθε εισδοχή/διαγραφή (InDels) κάθε δείγματός μας. Το εύρος διάταξης των InDels σε όλη την ‘περιοχή’ (whole region) και στην κωδικοποιούμενη ‘περιοχή’ [coding-sequence (CDS) region] αναλύθηκαν και παρατίθενται στη συνέχεια.

Όπως φαίνεται παρακάτω το εύρος διάταξης των InDels στην κωδικοποιούμενη περιοχή (CDS region) αποδεικνύει ότι οι ‘κορυφές’ [peaks] είναι παρούσες σε εύρος πολλαπλάσιο του 3 (δηλαδή 3, 6, 9, κτλ).

Αυτού του είδους οι μεταλλάξεις στην δική μας ανάλυση [InDels] με την περιοδικότητα που αποδείχτηκε λόγω του μικρού αριθμού των δειγμάτων μας έχουν σχετικά μικρή επίδραση στο γονιδίωμα των ασθενών.

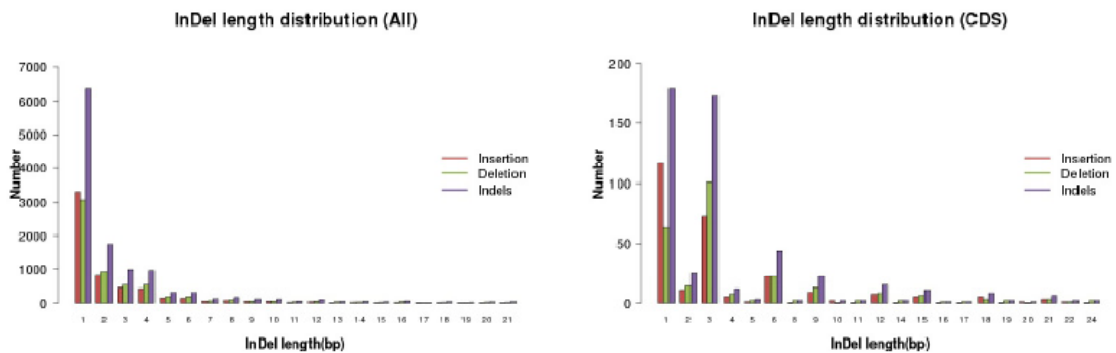
ΑΣΘΕΝΗΣ 1-ΔΕΙΓΜΑ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

InDels statistics

Categories	Value
Total	11795
1000genome and dbsnp	5272
1000genome specific	14
dbSNP specific	5604
dbSNP rate	92.21%
Novel	905
Hom	5398
Het	6397
Frameshift	229
Non-frameshift Insertion	87
Non-frameshift Deletion	99
Non-frameshift codon substitution	0
Non-frameshift codon substitution pl us Insertion	36
Non-frameshift codon substitution pl us Deletion	56

Categories	Value
Stopgain	2
Stoploss	2
Startgain	0
Startloss	1
Exonic	512
Splicing	16
NcRNA	55
UTR5	221
UTR3	610
Intronic	9399
Upstream	243
Downstream	205
Intergenic	534

InDel length distribution



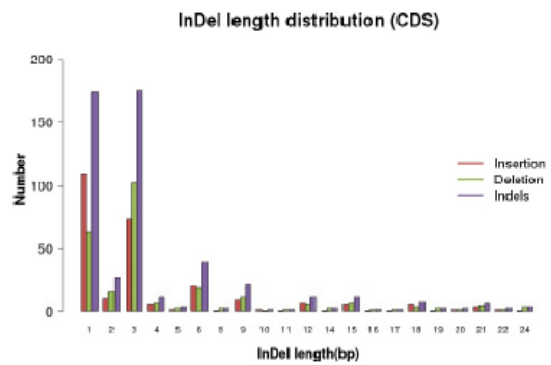
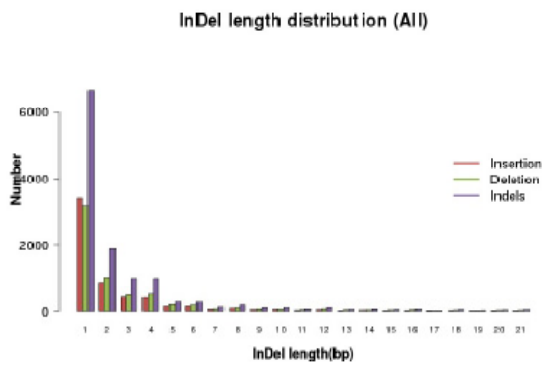
ΑΣΘΕΝΗΣ 1-ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ

InDels statistics

Categories	Value
Total	12318
1000genome and dbsnp	5480
1000genome specific	16
dbSNP specific	5908
dbSNP rate	92.45%
Novel	914
Hom	5549
Het	6769
Frameshift	223
Non-frameshift Insertion	85
Non-frameshift Deletion	98
Non-frameshift codon substitution	0
Non-frameshift codon substitution plus Insertion	39
Non-frameshift codon substitution plus Deletion	54

Categories	Value
Stopgain	2
Stoploss	2
Startgain	0
Startloss	1
Exonic	504
Splicing	17
NcRNA	55
UTR5	226
UTR3	649
Intronic	9872
Upstream	250
Downstream	210
Intergenic	535

InDel length distribution



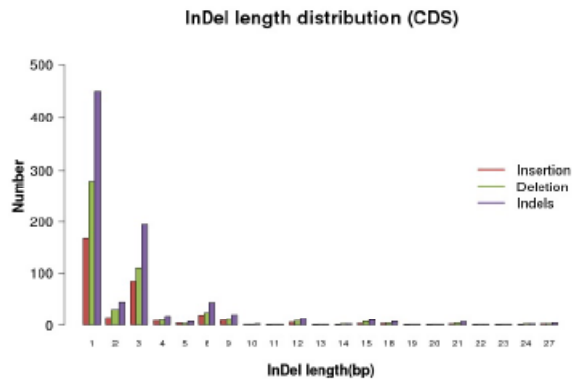
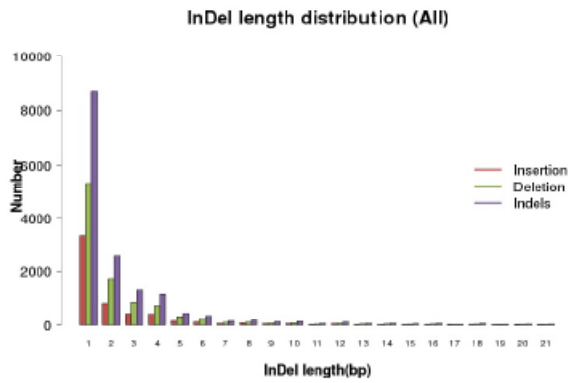
ΑΣΘΕΝΗΣ 2- ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ

InDels statistics

Categories	Value
Total	15679
1000genome and dbsnp	5317
1000genome specific	15
dbSNP specific	6066
dbSNP rate	72.60%
Novel	4281
Hom	4827
Het	10852
Frameshift	516
Non-frameshift Insertion	88
Non-frameshift Deletion	103
Non-frameshift codon substitution	0
Non-frameshift codon substitution plus Insertion	38
Non-frameshift codon substitution plus Deletion	65

Categories	Value
Stopgain	1
Stoploss	3
Startgain	0
Startloss	0
Exonic	814
Splicing	21
NcRNA	64
UTR5	263
UTR3	827
Intronic	12602
Upstream	300
Downstream	237
Intergenic	551

InDel length distribution



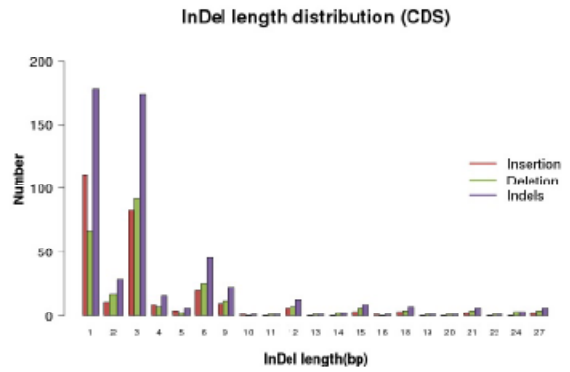
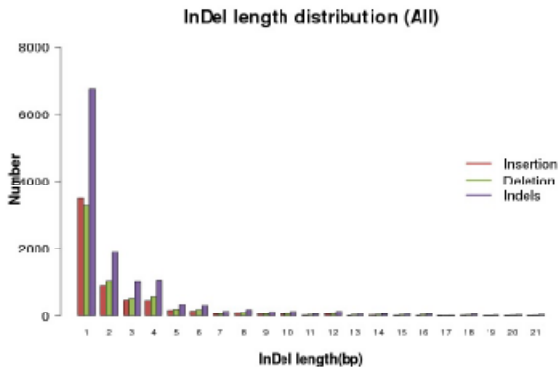
ΑΣΘΕΝΗΣ 2- ΔΕΙΓΜΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

InDels statistics

Categories	Value
Total	12529
1000genome and dbsnp	5538
1000genome specific	17
dbSNP specific	6082
dbSNP rate	92.74%
Novel	892
Hom	5541
Het	6988
Frameshift	229
Non-frameshift Insertion	89
Non-frameshift Deletion	93
Non-frameshift codon substitution	0
Non-frameshift codon substitution plus Insertion	38
Non-frameshift codon substitution plus Deletion	60

Categories	Value
Stopgain	1
Stoploss	2
Startgain	0
Startloss	0
Exonic	512
Splicing	19
NcRNA	55
UTR5	233
UTR3	639
Intronic	10057
Upstream	252
Downstream	203
Intergenic	559

InDel length distribution



Ανάλυση αποτελεσμάτων σωματικών μεμονωμένων νουκλεοτιδιακών αλλαγών-μεταλλάξεων (SNVs Analysis)

Οι σωματικές μεμονωμένες νουκλεοτιδιακές μεταλλάξεις (SNVs) αποτελούν νουκλεοτιδικές αλλαγές που συμβαίνουν σε οποιοδήποτε κύτταρο του ανθρώπινου οργανισμού, όπως συμβαίνει και στην περίπτωση της έναρξης της καρκινογένεσης. Προηγουμένως χρησιμοποιήθηκε το σύστημα VarScan έτσι ώστε να ανιχνευθούν οι ειδικές καρκινικές σωματικές αντικαταστάσεις συγκρίνοντας τα ζεύγη των καρκινικών και φυσιολογικών γαστρικών ιστών των ασθενών μας. Στην συγκεκριμένη φάση της ανάλυσης χρησιμοποιήθηκε το σύστημα VarScan έτσι ώστε να ανιχνευθούν ειδικές SNVs στον φυσιολογικό και στον καρκινικό ιστό των ασθενών με ταυτόχρονη σύγκριση όλων των βάσεων και των συχνοτήτων ανάμεσα στο φυσιολογικό (N) και στον καρκινικό (T) ιστό των ασθενών μας.

Από τη στιγμή που ανιχνεύθηκαν οι SNVs στα δείγματά μας έγινε χρήση και του συστήματος AnnoDB για την σωστή ταξινόμηση των αποτελεσμάτων.

Είναι μείζονος σημασίας να τονιστεί σε αυτή την φάση της ανάλυσης ότι η γενετική αλληλούχηση με τεχνολογίες επόμενης γενιάς [Next-generation sequencing (NGS)] όπως έγινε στην παρούσα μελέτη, έδωσε την μοναδική δυνατότητα να ανακαλυφθούν αυτού του είδους οι μεμονωμένες νουκλεοτιδιακές αλλαγές-τροποποιήσεις-μεταλλάξεις (SNV) στον καρκίνο. Πιο συγκεκριμένα, αυτού του είδους οι τροποποιήσεις-αλλαγές (SNVs) αποτελούν τους πλέον καθοριστικούς παράγοντες που οδηγούν στην καρκινογένεση και στον 'ανώμαλο' κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε διάφορους τύπους καρκίνου.

Οι σωματικές μεταλλάξεις αφορούν κύτταρα εκτός της 'ομάδας' αναπαραγωγής και δεν μεταδίδονται συνήθως στους απογόνους. Αυτές οι συγκεκριμένες μεταλλάξεις είναι παρούσες σε όλους τους 'απογόνους' του συγκεκριμένου κυττάρου στον ίδιο οργανισμό και κάποιες από αυτές τις μεταλλάξεις μπορούν να μεταμορφώσουν το συγκεκριμένο κύτταρο σε κακόηθες και αυτό το γεγονός στην ουσία προκαλεί τον καρκίνο.

Στα 2 ζεύγη καρκινικού-φυσιολογικού γαστρικού ιστού της συγκεκριμένης μελέτης ανιχνεύθηκαν σημαντικές μεταλλάξεις. Οι σωματικές μεταλλάξεις που προέκυψαν ήταν για το πρώτο ζεύγος φυσιολογικού-καρκινικού γαστρικού ιστού 137, εκ των οποίων οι 121 ανευρίσκονται για πρώτη φορά. Πιο αναλυτικά, προέκυψαν 69 μεταλλάξεις C:G-T:A, 27 μεταλλάξεις C:G-A:T, 13 T:A-C:G, 10

μεταλλάξεις T:A-A:T, 10 μεταλλάξεις C:G-G:C και 8 μεταλλάξεις T:A-G:C. Όσον αφορά το δεύτερο ζεύγος φυσιολογικού-καρκινικού γαστρικού ιστού προέκυψαν 2.309 μεταλλάξεις, εκ των οποίων οι 2008 ανευρίσκονται για πρώτη φορά. Πιο αναλυτικά, προέκυψαν 1495 μεταλλάξεις C:G-T:A, 360 μεταλλάξεις C:G-A:T, 252 μεταλλάξεις T:A-C:G, 93 μεταλλάξεις T:A-G:C, 89 μεταλλάξεις T:A-A:T και 20 μεταλλάξεις C:G-G:C.

Τα αποτελέσματα αυτά φαίνονται και πιο αναλυτικά στη συνέχεια.

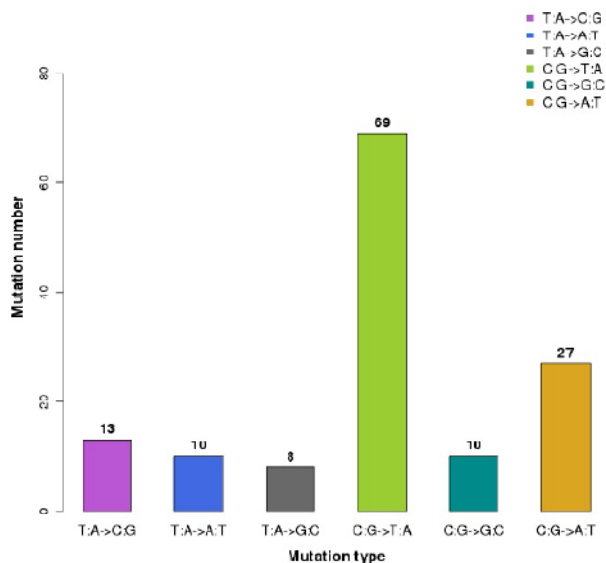
ΑΣΘΕΝΗΣ 1-ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

SNVs statistics

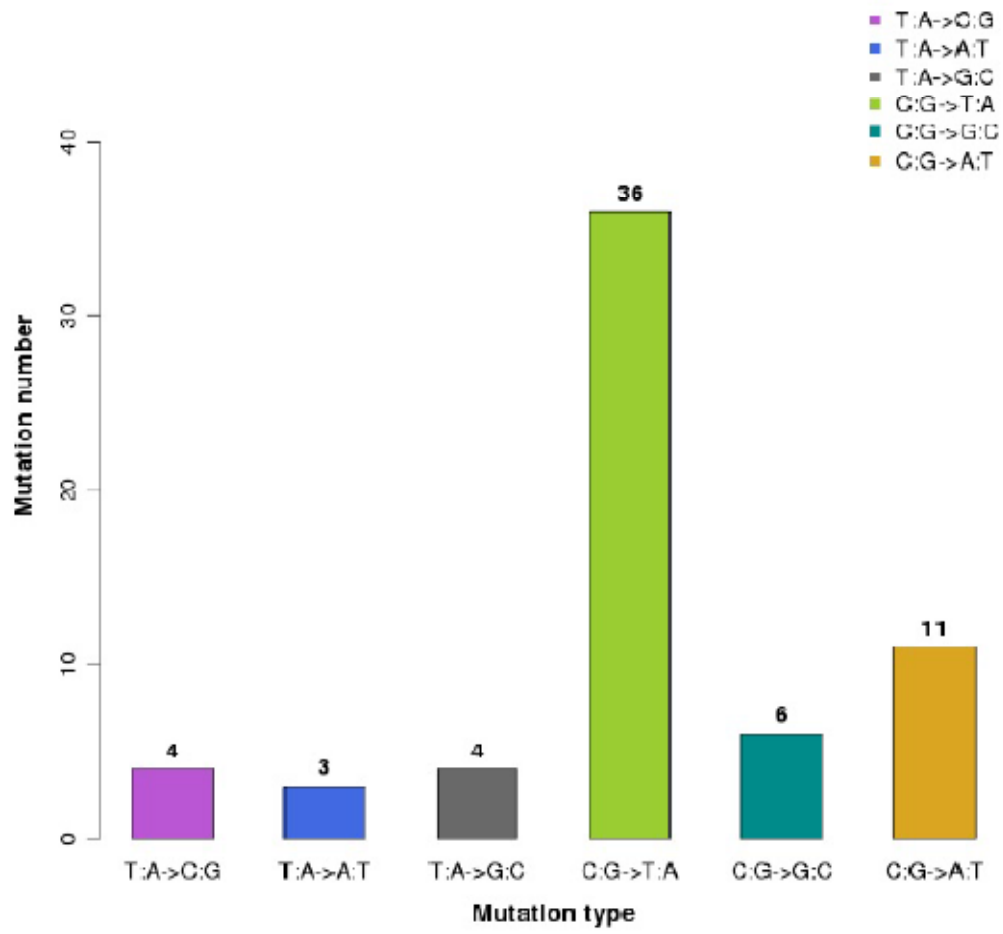
Categories	Value	Categories	Value
Total	137	Exonic	62
1000genome and dbsnp	5	Splicing	2
1000genome specific	0	NcRNA	2
dbSNP specific	11	UTR5	5
dbSNP rate	11.68%	UTR3	1
Novel	121	Intronic	57
Hom	0	Upstream	3
Het	137	Downstream	3
Synonymous	14	Intergenic	2
Missense	46	SIFT	21
Stopgain	2	Ti/Tv	1.4909
Stoploss	0	dbSNP Ti/Tv	7.0000
Startgain	3	Novel Ti/Tv	1.2830
Startloss	0		

Somatic Mutation Spectrum (All)

Mutation Spectrum



Somatic Mutation Spectrum (CDS)

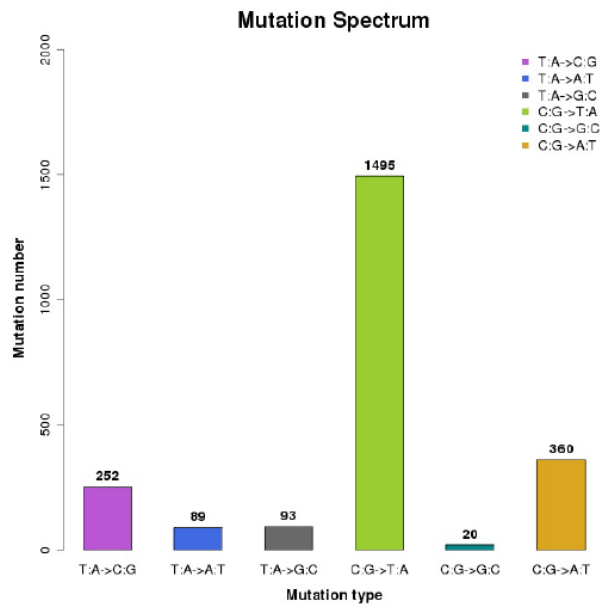


ΑΣΘΕΝΗΣ 2-ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ-ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

SNVs statistics

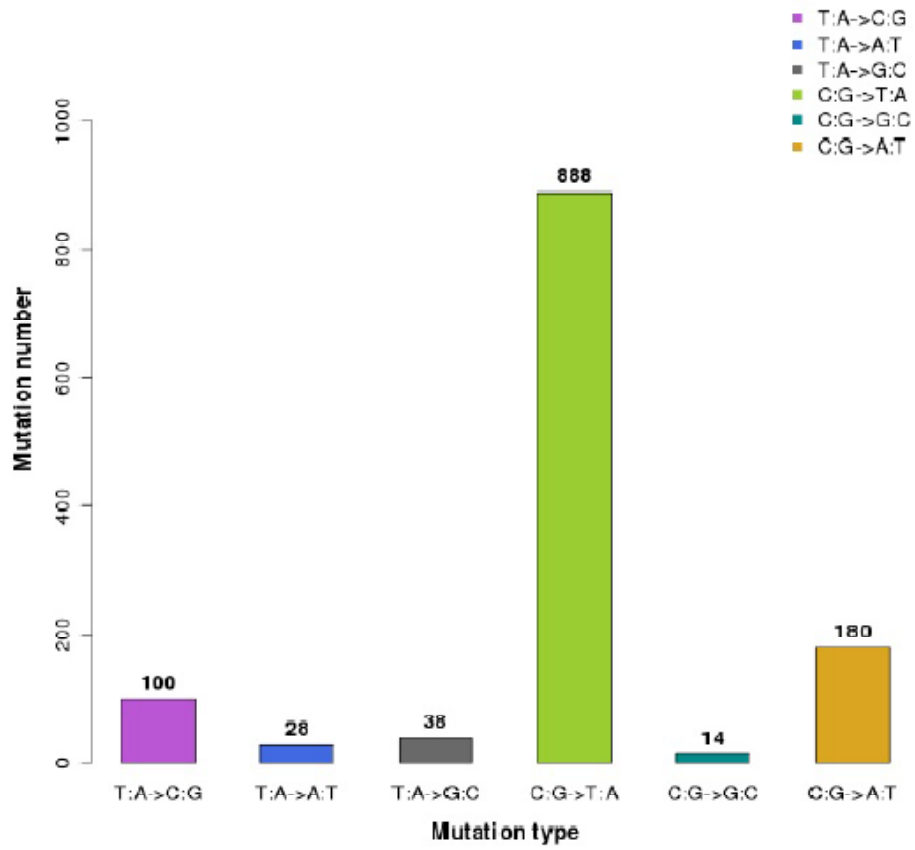
Categories	Value	Categories	Value
Total	2309	Exonic	1239
1000genome and dbsnp	121	Splicing	9
1000genome specific	0	ncRNA	21
dbSNP specific	180	UTR5	42
dbSNP rate	13.04%	UTR3	90
Novel	2008	Intronic	816
Hom	0	Upstream	18
Het	2309	Downstream	13
Synonymous	398	Intergenic	61
Missense	789	SIFT	351
Stopgain	48	Ti/Tv	3.1085
Stoploss	2	dbSNP Ti/Tv	15.7222
Startgain	7	Novel Ti/Tv	2.6912
Startloss	2		

Somatic Mutation Spectrum (All)



Somatic Mutation Spectrum (CDS)

Mutation Spectrum



Σωματικές μεταλλάξεις εισδοχές/διαγραφές (Somatic InDels Analysis)

Σωματικές μεταλλάξεις InDel, είναι οι μεταλλάξεις που οφείλονται σε εισδοχή-εισχώρηση ή διαγραφή ενός ή λίγων νουκλεοτιδίων σε κάθε κύτταρο (non-germ) του οργανισμού μετά τη σύλληψη, και μπορούν αυτές οι μεταλλάξεις να δώσουν έναυσμα στην διαδικασία της καρκινογένεσης. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε έχει ως εξής: αρχικά γίνεται έλεγχος στον καρκινικό ιστό και έπειτα γίνεται σύγκριση με τον φυσιολογικό ιστό έτσι ώστε να ανευρεθεί κάποιο ίχνος της μετάλλαξης. Εάν δεν υπάρχει ένδειξη που να υποστηρίζει την εισδοχή/διαγραφή στο δείγμα φυσιολογικού ιστού, η μετάλλαξη θεωρείται ως putative somatic InDel.

ΑΣΘΕΝΗΣ 1-ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Somatic InDels statistics

Categories	Value
Total	16
1000genome and dbsnp	4
1000genome specific	1
dbSNP specific	3
dbSNP rate	43.75%
Novel	8
Hom	0
Het	16
Frameshift	1
Non-frameshift Insertion	0
Non-frameshift Deletion	0
Non-frameshift codon substitution	0
Non-frameshift codon substitution plus Insertion	0
Non-frameshift codon substitution plus Deletion	0

Categories	Value
Stopgain	0
Stoploss	0
Startgain	0
Startloss	0
Exonic	1
Splicing	0
NcRNA	0
UTR5	0
UTR3	0
Intronic	12
Upstream	0
Downstream	0
Intergenic	3

ΑΣΘΕΝΗΣ 2-ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Somatic InDels statistics

Categories	Value
Total	228
1000genome and dbsnp	10
1000genome specific	0
dbSNP specific	36
dbSNP rate	20.18%
Novel	182
Hom	0
Het	228
Frameshift	13
Non-frameshift Insertion	0
Non-frameshift Deletion	0
Non-frameshift codon substitution	0
Non-frameshift codon substitution plus Insertion	0
Non-frameshift codon substitution plus Deletion	0

Categories	Value
Stopgain	0
Stoploss	0
Startgain	0
Startloss	0
Exonic	13
Splicing	0
NcRNA	0
UTR5	2
UTR3	7
Intronic	189
Upstream	6
Downstream	4
Intergenic	7

Σωματικές αλλαγές στην αντιγραφή (copy number variations-CNVs)

Αλλαγές στην αντιγραφή, CNVs, μια μορφή δομικών αλλαγών, αποτελούν αλλαγές στο DNA που οδηγούν το κύτταρο να έχει ένα ανώμαλο αριθμό αντιγράφων ενός ή περισσότερων τμημάτων του DNA. Οι σωματικές CNVs αντιστοιχούν σε σχετικά μεγάλες περιοχές του γονιδιώματος που έχουν διαγραφεί (άρα μικρότερος αριθμός από τον φυσιολογικό) ή διπλασιαστεί (μεγαλύτερος αριθμός από τον φυσιολογικό) σε συγκεκριμένα χρωμοσώματα. Για παράδειγμα, το χρωμόσωμα που φυσιολογικά έχει τμήματα με σειρά A-B-C-D μεταλλάσσεται σε σειρά A-B-C C-D (διπλασιασμός του "C") ή A-B-D (διαγραφή του "C").

ΑΣΘΕΝΗΣ 1- ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Somatic CNVs statistics

Categories	Value	Categories	Value
Total	98	UTR3	0
Exonic	97	Intronic	0
Exonic and splicing	0	Upstream	0
Splicing	0	Upstream and downstream	0
ncRNA	1	Downstream	0
UTR5	0	Intergenic	0
UTR5 and UTR3	0	Amplification Size	21340529
		Deletion Size	0

ΑΣΘΕΝΗΣ 2- ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ

Somatic CNVs statistics

Categories	Value	Categories	Value
Total	1	UTR3	0
Exonic	1	Intronic	0
Exonic and splicing	0	Upstream	0
Splicing	0	Upstream and downstream	0
ncRNA	0	Downstream	0
UTR5	0	Intergenic	0
UTR5 and UTR3	0	Amplification Size	0
		Deletion Size	2040

Λίστα πιθανών εμπλεκόμενων γονιδίων στον καρκίνο του στομάχου από τη συγκεκριμένη μελέτη

Το πιο ουσιαστικό σημείο της συγκεκριμένης γενετικής ανάλυσης είναι η προσπάθεια ανίχνευσης γονιδίων που να διαδραματίζουν κάποιο σημαντικό ρόλο στην γαστρική καρκινογένεση καθώς και η σύγκριση της δικής μας λίστας γονιδίων με τα ευρήματα της διεθνούς βιβλιογραφίας στον καρκίνο του στομάχου.

Λίστα Γονιδίων (MutSigCV ανάλυση)

Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη η πιο προηγμένη και αξιόπιστη [MutSigCV] [174] βιοπληροφορική μέθοδος έτσι ώστε να ανιχνευθούν σημαντικά μεταλλαγμένα γονίδια για αυτά τα συγκεκριμένα 2 ζεύγη δειγμάτων της μελέτης μας. Επίπεδα σημαντικότητας [Significance levels (P values)] καθορίστηκαν αναλύοντας το κατά πόσο οι μεταλλάξεις που σημειώθηκαν σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο ξεπέρασαν τον αναμενόμενο αριθμό που βασίστηκε σε ένα προκαθορισμένο μοντέλο. Υπολογίστηκαν έπειτα σημαντικά στοιχεία στατιστικής ακρίβειας και αξιοπιστίας [False-discovery rates (q values)] και τα γονίδια με χαμηλές τιμές θεωρήθηκαν σημαντικά μεταλλαγμένα στα δείγματά μας. Λόγω του περιορισμένου αριθμού ασθενών (2) και δειγμάτων (4), τα γονίδια που ανευρέθησαν στην παρούσα μελέτη θεωρούνται σημαντικά, αλλά δεν μπορεί να υποστηριχθεί ότι διέπονται από 100% σημαντική στατιστική ισχύ. Χρειάζονται παραπάνω δείγματα ασθενών ώστε να μπορούν να εξαχθούν ασφαλή στατιστικά συμπεράσματα.

Τα γονίδια που τονίζονται και που προκύπτουν ως τα πιο σημαντικά μετά από τη δική μας μελέτη καθώς και η σύγκρισή τους με ήδη κατοχυρωμένα γονίδια που εμπεριέχονται σε γνωστές βάσεις δεδομένων [catalogue of somatic mutations in cancer (COSMIC)] ή που προκύπτουν από υπάρχουσες μελέτες που εκπονήθηκαν με τεχνολογίες αλληλούχησης επόμενης γενιάς [175-178] [Next Generation Sequencing (NGS) analyses] φαίνονται και αναλύονται στον πίνακα που ακολούθει (πίνακας 7.7).

NGS-WES STUDY [2 ασθενείς] Λίστα σημαντικών γονιδίων της μελέτης μας (HIGHLIGHTED GENES)	NGS-WES μελέτη του ZANG και συν. [175] [15 ασθενείς] (μεταλλαγμένα γονίδια)	NGS-WES του WANG και συν. [176] [22 ασθενείς] (μεταλλαγμένα γονίδια)	NGS-WGS του WONG και συν. [177] [49 ασθενείς] (μεταλλαγμένα γονίδια)	NGS-WGS του WANG και συν. [178] [100 ασθενείς] (μεταλλαγμένα γονίδια)	Βάση γονιδίων (COSMIC) Λίστα επιβεβαιωμένων μεταλλαγμένων γονιδίων στον καρκίνο στομάχου
HMX3	ARID1A	TP53	ARID1A	TP53	TP53
C14orf177	MTI3	ARID1A	TP53	ARID1A	ARID1A
LCN2	MLL	PTEN	ASB5	CDH1	CDH1
IFNE	DNMT3A	RPL22	KRT7	MUC6	APC
YWHAG	SETD1A	ITK	CDH1	CTNNA2	PIC3CA
CYTI3	KDM2B	FMN2	TMPRSS2	GLI3	MLL3
VPS37B	BAZ1B	SPRR2B	DEFB118	RNF43	TRRAP
SULT2A1	CDH4	PTN	SYNE1	RHOA	CTNNB1
SIRT4	TP53	ACVR2A	ZNF610	ZIC4	KMT2D
PLSCR1	PIC3CA	PMS2L3	TGFBR2	SMAD4	RNF213
GAIN14	FAT4	DNAH7	ASTN1	RIMS2	MYH0
RNF43		TTN	EPHRINS	RNF43	RHOA
SCN1A		FSCB	SLIT/ROBO	THSD7B	CREBBP
SLC30A4		CTNNB1		DCLK1	KRAS
SAAL1		SEMA3E		ELF3	SETBP1
RBMX		MCHR1		TGFBR2	AKAP9
DNTT		SPANLN2		ACVR2A	MLL
POU4F1		METTL3		RPL22	ZNF521
TRIM68		EIF3A		MLH1	UBR5
TRIML2		EPB41L3		CHFR	CACNA1D
PCYOX1				BNTF3	
TP53				CCND1	
RFTN1				CCNE1	
CYBB				CDK6	
STAMBPL1				CDKN2A	
DEFB118				EGFR	
IL13RA2				ERBB2	
FCDHGA11				FGFR2	
FICD				KRAS	
NTNG1				MET	
GNGT1				MYC	
RNF213				PTEN	

Πίνακας 7.7: Λίστα γονιδίων που προέκυψε από την μελέτη μας και σύγκριση με τη βάση δεδομένων COSMIC καθώς και με πρόσφατες αντίστοιχες μελέτες που διενεργήθηκαν με τεχνολογίες αλληλούχησης γονιδιώματος επόμενης γενιάς. Με μαύρο είναι σημειωμένα τα γονίδια που επιβεβαιώθηκαν από τη δική μας μελέτη [Catalogue of somatic mutations in cancer (COSMIC)]

Όπως αναδεικνύεται από τον παραπάνω πίνακα δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι ο καρκίνος του στομάχου διέπεται από μεγάλη ετερογένεια και πολυπλοκότητα. Σημαντικό εύρημα για εμάς αποτελεί το γεγονός ότι επιβεβαιώθηκαν 4 γονίδια από τη δική μας μελέτη που έχουν ήδη ανευρεθεί σε άλλες παρόμοιες μελέτες ή περιλαμβάνονται ήδη στην βάση δεδομένων COSMIC (πίνακας 7.7). Όλα τα υπόλοιπα 28 γονίδια που προέκυψαν από την παρούσα μελέτη δεν υπάρχουν

σε άλλες βάσεις δεδομένων και δεν προκύπτουν από παρόμοιες μελέτες. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν ότι περισσότερα δείγματα ασθενών σε μελλοντικές μελέτες είναι απαραίτητα για να επιβεβαιωθεί ή να καταρριφθεί η σημασία των συγκεκριμένων γονιδίων στον καρκίνο του στομάχου.

8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1^ο ΣΚΕΛΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ (ΚΛΙΝΙΚΟ ΣΚΕΛΟΣ):

Η συγκεκριμένη μελέτη αναδεικνύει σημαντικά στατιστική συσχέτιση όσον αφορά το δείκτη μάζας σώματος (BMI) και την αναλογία διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) με την επιβίωση των ασθενών που πάσχουν από γαστρικό καρκίνο κατά τη διάγνωση και την χειρουργική επέμβαση, εκτός από ήδη γνωστούς και επιβεβαιωμένους προγνωστικούς παράγοντες (όπως το στάδιο της νόσου, οι διαστάσεις του νεοπλάσματος, η ηλικία των ασθενών και η διαφοροποίηση των νεοπλασμάτων).

Επιπρόσθετα, τα ευρήματά μας όσον αφορά την συσχέτιση των μετεγχειρητικών επιπλοκών με τους ασθενείς με υψηλό BMI συνάδουν με αυτά κάποιων πρόσφατων δημοσιευμένων κλινικών μελετών [179,180]. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι οι ασθενείς με υψηλό BMI βρίσκονται σε στατιστικά σημαντικό υψηλό κίνδυνο να παρουσιάσουν επιπλοκές μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή για καρκίνο.

Επιπλέον βρήκαμε ότι η σχέση ανάμεσα στο BMI των ασθενών και τα ποσοστά μακράς επιβίωσης ήταν στατιστικά σημαντική. Οι υπέρβαροι ασθενείς είχαν υψηλότερες πιθανότητες φτωχής επιβίωσης σε σχέση με τους ασθενείς με φυσιολογικό BMI και αυτό μπορεί να οφείλεται στην πιο ‘φτωχή’ ογκολογική χειρουργική επάρκεια στο χειρουργείο και στην πιθανά όχι τόσο εκτεταμένη λεμφαδεκτομή. Πράγματι, το ποσοστό της επαρκούς ογκολογικά γαστρεκτομής (R0 εκτομή) στους υπέρβαρους πιθανώς να είναι πιο χαμηλό και αυτό μπορεί ίσως να εξηγεί εν μέρει τη φτωχή επιβίωση των ασθενών αυτών όπως φάνηκε στη μελέτη μας (γράφημα 7.1). Αξίζει να τονιστεί ότι στην μελέτη μας, το να είναι κάποιος ασθενής υπέρβαρος αποδείχτηκε ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας επιβίωσης σε ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο στομάχου. Παρόλα αυτά, χρειάζονται μελέτες με πολύ περισσότερους ασθενείς έτσι ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα σε αυτόν τον τομέα διότι οι υπέρβαροι ασθενείς συνήθως παρουσιάζουν συνοδά προβλήματα (Σ.Δ, καρδιολογικές και αγγειολογικές παθήσεις, λήψη αντιπηκτικών) που αυξάνουν τον διεγχειρητικό κίνδυνο, έχουν επίπτωση στην μετεγχειρητική περίοδο και πιθανώς να επηρεάζουν και την πρόγνωση των ασθενών αυτών. Επίσης πρέπει να τονίσουμε ότι επιβεβαιώνουμε με την παρούσα μελέτη τα πρόσφατα

δημοσιευμένα βιβλιογραφικά ευρήματα που αφορούν την αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) στον καρκίνο του στομάχου. Η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) αναδείχτηκε από την παρούσα μελέτη ως ισχυρός ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας φτωχής επιβίωσης σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου ($p=0,000$).

Έχει επίσης αναφερθεί τα τελευταία χρόνια ότι καθοριστικοί παράγοντες για την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από γαστρεκτομή για καρκίνο είναι η έκταση της χειρουργικής επέμβασης και της λεμφαδεκτομής.

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι η εκτομή και άλλων οργάνων (σπλήνας, πάγκρεας) αυξάνει τα ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας μετά από γαστρεκτομή. Δημοσιευμένες στατιστικές αναλύσεις υποστηρίζουν ότι οι μετεγχειρητικές επιπλοκές μετά από γαστρεκτομή σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου δεν συσχετίζονται με την ηλικία, το φύλο, τον τύπο της γαστρεκτομής και το τελικό στάδιο της νόσου. Περιγράφεται επίσης σαφώς ότι η εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών δρουν αρνητικά στην πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο στομάχου [179-184].

Επιπρόσθετα, παράγοντες-παράμετροι όπως το βάθος διήθησης του όγκου, η διήθηση των λεμφαδένων, η παρουσία τοπικοπεριοχικής ή απομακρυσμένης μεταστατικής νόσου είναι ευρέως γνωστοί ως ‘παραδοσιακοί’ προγνωστικοί παράγοντες σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου. Επιπλέον, η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) και πολύ πρόσφατα η παρουσία περινευρικής και λεμφαγγειακής διήθησης αποτελούν πιθανούς νέους προγνωστικούς παράγοντες για ασθενείς με καρκίνο στομάχου και αποτελούν αντικείμενο μελέτης [185]. Η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) σήμερα προσελκύει το ενδιαφέρον των ειδικών στον καρκίνο του στομάχου επειδή, παρόλο που οι μεταστάσεις στους τοπικό-περιοχικούς λεμφαδένες είναι ο πιο σημαντικός προγνωστικός παράγοντας στον καρκίνο του στομάχου, διαφορετικές προγνώσεις προκύπτουν ακόμη και μεταξύ ασθενών της ίδιας N κατηγορίας του TNM συστήματος σταδιοποίησης. Αξίζει να σημειωθεί ότι πρόσφατες αναδρομικές μελέτες αναφέρουν ότι η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) είναι τόσο σημαντική που μπορεί να προταθεί ως αξιόπιστη προγνωστική παράμετρος για ασθενείς με καρκίνο του στομάχου. Μερικοί ερευνητές αναφέρουν επίσης ότι η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων αποτελεί ίσως πιο σαφή δείκτη για προγνωστικούς λόγους σε

ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες σε σχέση με την N σταδιοποίηση του συστήματος TNM [186]. Άλλοι ερευνητές, μετά από μεγάλες αναδρομικές μελέτες, υποστηρίζουν ότι η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων αποτελεί ισχυρό ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα φτωχής επιβίωσης σε ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο στομάχου [187]. Άλλες μελέτες αναφέρουν επίσης ότι η ικανότητα της αναλογίας των διηθημένων λεμφαδένων στην 'πρόβλεψη' της πιθανότητας θανάτου ασθενών που πάσχουν από καρκίνο στομάχου είναι σχεδόν ίδιας δυναμικότητας με τον αριθμό των διηθημένων λεμφαδένων [187]. Ο Alatengbaolide και συν. σε μια πολύ μεγάλη αναδρομική μελέτη 710 ασθενών με καρκίνο στομάχου επιβεβαίωσαν την αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) ως ανεξάρτητο προγνωστικό φτωχής επιβίωσης μετά από πιθανή θεραπευτική γαστρεκτομή [188]. Πρέπει να τονίσουμε ότι και η δική μας μελέτη επιβεβαίωσε την σημαντική προγνωστική αξία της αναλογίας των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου. Φαίνεται ότι για κάθε 0,1 αύξησης του LN ratio του ασθενούς ο κίνδυνος αυξάνεται κατά ~93% [HR=9,313, 95% C.I.(4,222 – 20,542) p=0.000].

Πρέπει επίσης να τονιστεί ότι στην Ευρώπη σήμερα η παχυσαρκία αποτελεί σημαντικό πρόβλημα που προσελκύει το ενδιαφέρον των ερευνητών. Η σχέση ανάμεσα στο δείκτη μάζας σώματος των ασθενών με τα ποσοστά μακράς επιβίωσης μετά από γαστρεκτομή για καρκίνο παραμένει σήμερα υπό συζήτηση γιατί τα μέχρι τώρα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Μετά από έλεγχο της βιβλιογραφίας, προκύπτει ότι μόνο λίγες μελέτες ασχολήθηκαν μέχρι τώρα με αυτό το θέμα. Το 2009 στην Ιαπωνία, ο Ojima και συν. μετά από μελέτη 689 ασθενών με καρκίνο στομάχου, συμπέραναν ότι η ομάδα των υπέρβαρων ασθενών με καρκίνο στομάχου παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ποσοστά υψηλών μετεγχειρητικών επιπλοκών στην ($p < 0,05$), αλλά τα ποσοστά συνολικής επιβίωσης δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ υπέρβαρων και φυσιολογικού βάρους ασθενών [189].

Επιπλέον, σε μια άλλη μελέτη, ο Tokunaga και συν. κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το ποσοστό των μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από γαστρεκτομή δεν διέφερε ανάμεσα σε υπέρβαρους και φυσιολογικού βάρους ασθενείς. Αντίθετα με τα δικά μας αποτελέσματα, η μελέτη αυτή απέδειξε καλύτερα αποτελέσματα επιβίωσης μετά από γαστρεκτομή σε υπέρβαρους ασθενείς [190]. Όσον αφορά μελέτες από Δυτικές χώρες η πρώτη που δημοσιεύθηκε ήταν από τον Kulig και συν. και

προέρχεται από την Πολωνία. Η μελέτη αυτή απέδειξε ότι οι ασθενείς με υψηλό δείκτη μάζας σώματος παρουσίασαν υψηλότερο ποσοστό μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από χειρουργείο για καρκίνο στομάχου, αλλά το να είναι κάποιος ασθενής υπέρβαρος δεν αποδείχτηκε ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας επιβίωσης στον καρκίνο του στομάχου [191]. Επιπρόσθετα, ο Nobuoka και συν. σε μια Ιαπωνική μελέτη που περιελάμβανε 644 ασθενείς κατέληξαν στο ότι η επίπτωση των μετεγχειρητικών επιπλοκών ήταν στατιστικά σημαντικά περισσότερες στους υπέρβαρους ασθενείς με καρκίνο στομάχου [192]. Πρόσφατα, η πρώτη μελέτη από την Αμερική για αυτό το θέμα δημοσιεύθηκε από τον Bichenbach και συν. Η μελέτη αυτή κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ο υψηλός δείκτης μάζας σώματος συσχετίζεται σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο μετεγχειρητικών επιπλοκών, αλλά δεν αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης στον καρκίνο του στομάχου [182]. Η δική μας μελέτη επιβεβαίωσε την συσχέτιση του υψηλού δείκτη μάζας σώματος με τον υψηλό κίνδυνο εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών αλλά παράλληλα ανέδειξε τον υψηλό δείκτη μάζας σώματος ως ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα φτωχής επιβίωσης στους ασθενείς με καρκίνο στομάχου.

Ο καρκίνος στομάχου είναι αναμφίβολα ένας από τους πιο κοινούς τύπους καρκίνου και παρόλο που η επίπτωσή του έχει αρχίσει να μειώνεται, παραμένει μια επιθετική νόσος με φτωχή πρόγνωση [193]. Στην πλειοψηφία των ασθενών η νόσος διαγιγνώσκεται σε προχωρημένο στάδιο λόγω της απουσίας προγραμμάτων προληπτικού ελέγχου (screening) στις Δυτικές Χώρες [193]. Πρόσφατες μελέτες παρουσιάζουν στη Ευρώπη φτωχά ποσοστά 5-ετούς επιβίωσης, με μέσο όρο επιβίωσης 24 μηνών [194]. Η επίτευξη ποσοστών 5-ετούς επιβίωσης μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή στο Δυτικό κόσμο παρόμοια με τα ποσοστά που προέρχονται από την Ιαπωνία και την Κορέα (50-60%), παραμένει ακόμη και σήμερα μια ουτοπία πιθανώς λόγω της καθυστερημένης διάγνωσης της νόσου στην Ευρώπη και στην Αμερική. Διάφοροι ακόμη παράγοντες μπορεί να είναι υπεύθυνοι για αυτές τις μεγάλες διαφορές στα ποσοστά επιβίωσης ανάμεσα στις Ανατολικές και Δυτικές χώρες. Γι'αυτόν τον λόγο μελέτες που προσπαθούν να αξιολογήσουν πιθανούς προγνωστικούς παράγοντες για αυτήν την επιθετική μορφή καρκίνου βρίσκονται πάντα στην κορυφή του επιστημονικού ενδιαφέροντος [194].

Όσον αφορά τη δική μας μελέτη, δεν υπάρχει αμφιβολία ότι έχει διάφορους περιορισμούς. Ο κύριος περιορισμός της είναι ότι έχει αναδρομικό χαρακτήρα. Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι έχουμε να κάνουμε με συνολική επιβίωση των ασθενών και αυτό σημαίνει ότι το τελικό ‘γεγονός’ στη μελέτη μας (final event) ήταν ο θάνατος. Αναλύοντας τους φακέλους των ασθενών κατά την παρακολούθηση τους, σημειώνουμε ότι η αιτία θανάτου ήταν η υποτροπή της νόσου και η εξέλιξη της νόσου (cancer death). Αυτό μπορεί να εξηγηθεί και από το γεγονός ότι ο αριθμός των ασθενών μας ήταν περιορισμένος ώστε να μπορέσουμε να ανιχνεύσουμε και ασθενείς που κατέληξαν από άλλα αίτια εκτός της νόσου. Επίσης ο μέσος όρος του δείκτη μάζας σώματος των ασθενών μας ήταν 25,24 (ελαφρά υπέρβαροι ασθενείς). Επιπλέον, πρέπει να αναφέρουμε ότι κάποιοι ήδη κατοχυρωμένοι προγνωστικοί παράγοντες για ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο στομάχου όπως το στάδιο της νόσου, η διήθηση του ορογόνου και η διαφοροποίηση των νεοπλασμάτων δεν αναδείχθηκαν από την μελέτη μας ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες και αυτό αποτελεί σημαντικό περιορισμό της μελέτης μας. Το γεγονός ότι δεν καταφέραμε με την πολυπαραγοντική μας ανάλυση να αναδείξουμε την ανεξάρτητη προγνωστική αξία αυτών των παραγόντων αντανακλά τον περιορισμένο αριθμό των ασθενών μας και το χαμηλό ποσοστό ασθενών που διαγνώστηκαν σε πρώιμο στάδιο. Παρόλο αυτά αναδείξαμε την προγνωστική αξία αυτών των παραγόντων στην μονοπαραγοντική μας ανάλυση.

Επιπρόσθετα, το ποσοστό επιβίωσης των ασθενών μας είναι πιο χαμηλό από τα ποσοστά που προέρχονται από Δυτικά κέντρα εξειδικευμένα στον καρκίνο του στομάχου, και αυτό αντανακλά ίσως το υψηλό ποσοστό προχωρημένης νόσου στους ασθενείς που έλαβαν μέρος στην μελέτη μας (το 62% των ασθενών μας ήταν σταδίου III) και το γεγονός ότι οι ασθενείς που συμπεριελήφθησαν στην μελέτη αυτή είναι από το 2000 όπου τα χημειοθεραπευτικά μετεγχειρητικά σχήματα ίσως δεν ήταν τόσο ‘επαρκή’ όσο τα τελευταία χρόνια. Παράλληλα, το ποσοστό αυτό μπορεί ίσως να αντιπροσωπεύει το μέσο όρο επιβίωσης των Ελλήνων ασθενών ως αποτέλεσμα καθυστερημένης διάγνωσης. Επιπλέον, το μικρό μέγεθος της μελέτης αυτής κάνει δύσκολη την κάθε μορφή σύγκρισης επιβίωσης κατά στάδιο. Για παράδειγμα, είναι αλήθεια ότι σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου σε αρχικά στάδια, ο δείκτης μάζας σώματος μπορεί να μην έχει ουδεμία επίπτωση στην επιβίωση. Αλλά στις Δυτικές χώρες ο καρκίνος στομάχου σπάνια διαγιγνώσκεται σε πρώιμο στάδιο.

Είναι εμφανές ότι περισσότερες μελέτες, προοπτικής φύσης, με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών είναι απαραίτητες έτσι ώστε να αξιολογηθούν τα ευρημάτά μας.

2^ο ΣΚΕΛΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ (ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΕΠΟΜΕΝΗΣ ΓΕΝΙΑΣ):

Τυχαιοποιημένες μελέτες και μετά-αναλύσεις έχουν καθορίσει σήμερα την χειρουργική αντιμετώπιση, την ακτινοθεραπεία, την χημειοθεραπεία και τις στοχευμένες θεραπείες ως θεραπευτικές προσεγγίσεις στην αντιμετώπιση ασθενών με καρκίνο στομάχου. Παρόλα αυτά όμως η εξατομικευμένη πρόβλεψη τόσο της αντοχής στην θεραπεία, της υποτροπής όσο και της μεταστατικής πορείας της νόσου παραμένει ακόμη και σήμερα μια ουτοπία. Γι' αυτόν το λόγο οι γενετικές αναλύσεις με τεχνολογίες επόμενης γενιάς [next generation sequencing (NGS) technologies] είναι στο κέντρο του επιστημονικού ενδιαφέροντος.

Αρκετοί ασθενείς με καρκίνο στομάχου, ακόμη και μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή (R0) και επικουρική θεραπεία, παρουσιάζουν υποτροπή της νόσου και καταλήγουν. Επιπρόσθετα, και η ομάδα των ασθενών που λαμβάνουν στοχευμένη θεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab (25% όλων των ασθενών), παρουσιάζουν υποτροπή ενώ για το υπόλοιπο 75% των ασθενών δεν υπάρχει διαθέσιμη στοχευμένη θεραπεία [195]. Πρόσφατη επιστημονική γνώση υποστηρίζει ότι το κύριο πρόβλημα είναι η 'αντοχή' στην θεραπεία. Γι' αυτό οι ερευνητές σήμερα επικεντρώνονται στο να βρουν τρόπους ώστε να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα. Η δημιουργία πιο αποτελεσματικών θεραπευτικών προσεγγίσεων και η εύρεση προγνωστικών βιοδεικτών ώστε να επιλέγονται οι ασθενείς οι οποίοι θα επωφεληθούν από συγκεκριμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις αποτελεί σήμερα επιτακτική ανάγκη στον τομέα της χειρουργικής ογκολογίας με στόχο την αποτελεσματική εξατομικευμένη αντιμετώπιση των ασθενών με καρκίνο του στομάχου.

Αξίζει λοιπόν να τονιστεί το γεγονός ότι όλη η επιστημονική προσπάθεια στις μέρες μας επικεντρώνεται στο να βρεθεί μια λίστα γονιδίων, υπεύθυνα για την 'έναρξη', την 'πορεία' και το μεταστατικό δυναμικό διάφορων τύπων καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου και του γαστρικού καρκίνου. Όλη αυτή η επιστημονική προσπάθεια αποτελεί αναμφίβολα μεγάλη πρόκληση. Είναι

ευρέως γνωστό ότι οι ασθενείς καταλήγουν εξαιτίας των μεταστάσεων και η μεγάλη ελπίδα είναι να προβλεφθεί ή να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά η μεταστατική νόσος [173].

Πρόσφατες μελέτες περιλαμβάνουν την αλληλούχηση ζευγών καρκινικού-φυσιολογικού ιστού που ακολουθείται από προηγμένα μαθηματικά στατιστικά μοντέλα με στόχο την ανάλυση και την ανίχνευση εκείνων των γονιδίων στα οποία οι μεταλλάξεις συμβαίνουν με μεγαλύτερη συχνότητα [173]. Είναι πλέον σαφές ότι η γνώση των γονιδίων στα οποία οι μεταλλάξεις είναι υπεύθυνες για μια πληθώρα καρκίνων αποτελεί την κύρια επιστημονική προτεραιότητα σήμερα. Αναγνωρίζοντας ποιες μεταλλάξεις είναι ‘κύριες’ και ρίχνοντας άπλετο φως στο πώς τα υπεύθυνα γονίδια επηρεάζουν τις μεταστατικές ικανότητες ενός συγκεκριμένου τύπου καρκίνου μπορεί να οδηγήσει τους ερευνητές να διαλευκάνουν τους μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για τις μεταστάσεις [196,197].

Πρόσφατα σημαντικά στοιχεία έχουν προκύψει από προηγμένες μελέτες που χρησιμοποιούν τεχνολογίες επόμενης γενιάς (NGS technologies). Οι τεχνολογίες αυτές επιτρέπουν την αλληλούχηση του κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος [όλα τα γονίδια-whole-exome sequencing (WES)] και την αλληλούχηση του κωδικοποιούμενου και του μη κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος [whole-genome sequencing (WGS)] [196-198]. Είναι πλέον δυνατόν με τη χρήση αυτών των τεχνολογιών επόμενης γενιάς να χρησιμοποιηθούν προηγμένες αναλύσεις του γονιδιώματος έτσι ώστε να ανακαλυφθούν ειδικά μεταλλαγμένα γονίδια σε διάφορες μορφές καρκίνου. Οι μελέτες αυτού του είδους έχουν αναδείξει μια πληθώρα γονιδίων αποκαλύπτοντας διάφορα καρκινογόνα μονοπάτια που μπορεί να αποτελέσουν στο μέλλον πιθανούς εξατομικευμένους θεραπευτικούς ‘στόχους’ [198].

Όσον αφορά συγκεκριμένα το πεδίο του γαστρικού καρκίνου, σύμφωνα με την μεγαλύτερη βάση δεδομένων που περιλαμβάνει τις πιστοποιημένες σωματικές μεταλλάξεις για όλους τους τύπους καρκίνου στον κόσμο (COSMIC DATABASE) τα πιστοποιημένα μέχρι σήμερα πιο συχνά μεταλλαγμένα γονίδια στον καρκίνο στομάχου είναι τα ακόλουθα: *TP53*, *ARID1A*, *APC*, *CDH1*, *TRRAP*, *PIK3CA*, *MLL3*, *RNF213*, *KMT2D*, *MLL*, *CTNNB1*, *CREBBP*, *AKAP9*, *CACNA1D*, *MYH9*, *ZNF521*, *SETBP1*, *KRAS*, *CDH11*, *ATM*. (πίνακας 7.7).

Οι μελέτες που γίνονται αυτήν την περίοδο και χρησιμοποιούν τεχνολογίες επόμενης γενιάς (NGS technologies) αναμφίβολα έχουν προκαλέσει ‘επανάσταση’ στο χώρο της έρευνας που διεξάγεται για τον καρκίνο σε διάφορα επίπεδα. Πρόσφατα, η ανάλυση του γονιδιώματος ασθενών με καρκίνο στομάχου έχει αρχίσει να γίνεται με αυτές τις επαναστατικές μεθόδους και μέχρι στιγμής, αν και οι μελέτες είναι περιορισμένες, έχουν αποδώσει σημαντικά ευρήματα. Η πρώτη μελέτη που χρησιμοποίησε τεχνολογίες επόμενης γενιάς για την ανάλυση του κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος ασθενών με καρκίνο στομάχου δημοσιεύθηκε από τον Wang και συν [176]. Χρησιμοποιήθηκαν για αυτήν την μελέτη 22 ζεύγη καρκινικών-φυσιολογικών γαστρικών ιστών. Οι ερευνητές επιβεβαίωσαν 3 ήδη γνωστά γονίδια στον καρκίνο του στομάχου (*TP53*, *PTEN*, and *CTNNB1*). Το πιο σημαντικό όμως εύρημα αυτής της μελέτης ήταν η ανακάλυψη των πολλών και σημαντικών μεταλλάξεων στο γονίδιο *ARID1A*. Αυτό το μεταλλαγμένο γονίδιο είχε ήδη ανακαλυφθεί στο πεδίο άλλων τύπου καρκίνου (καρκίνος ωοθηκών) αλλά πρώτη φορά συνδέθηκε και με τον γαστρικό καρκίνο. Επιπλέον, ο Wang και συν. [176] συμπέραναν ότι οι διαφοροποιήσεις στο γονίδιο *ARID1A* είναι ισχυρά συνδεδεμένες με καλύτερη πρόγνωση ανεξάρτητα από το τελικό στάδιο της νόσου.

Επιπρόσθετα, το γονίδιο *ARID1A* επιβεβαιώθηκε επίσης ως ένα σημαντικά μεταλλαγμένο γονίδιο και σε μια άλλη μελέτη που διενεργήθηκε με τεχνολογίες επόμενης γενιάς στο κωδικοποιούμενο τμήμα του γονιδιώματος. Ο Zang και συν [175] μελέτησαν 15 ζεύγη καρκινικών-φυσιολογικών γαστρικών ιστών. Πρέπει να αναφερθεί ότι οι ερευνητές υπογράμμισαν τον σημαντικό ογκοκατασταλτικό ρόλο του γονιδίου *ARID1A*. Επιπλέον, οι ερευνητές ανακάλυψαν το γονίδιο *FAT4*, μέλος της οικογένειας E-cadherin, ως ένα σημαντικό γονίδιο στον καρκίνο του στομάχου. Η μελέτη αυτή υποστηρίζει τον πολύ σημαντικό ρόλο του γονιδίου *FAT4* ως ογκοκατασταλτικού γονιδίου στον καρκίνο του στομάχου [175].

Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι οι αναλύσεις που γίνονται σήμερα και δίνουν σημαντικές πληροφορίες όχι μόνο για το κωδικοποιούμενο τμήμα του γονιδιώματος (όπως οι προηγούμενες μελέτες και η δική μας) αλλά και για το μη κωδικοποιούμενο τμήμα του γονιδιώματος, είναι ακόμη σε πολύ αρχικό στάδιο. Η μεγαλύτερη από αυτές τις μελέτες για οποιοδήποτε τύπο καρκίνου είναι μια πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη από τον Wang K. και συν [177]. Οι ερευνητές αυτοί συμπεριέλαβαν 100

ασθενείς με καρκίνο στομάχου και ανέλυσαν 100 ζεύγη καρκινικού -φυσιολογικού γαστρικού ιστού. Κατέληξαν σε διάφορες γενετικές μεταλλάξεις που διέφεραν ανάλογα αν ο καρκίνος ήταν εντερικού ή διαχύτου τύπου. Το πιο σημαντικό σημείο αυτής της μελέτης [177] όμως ήταν ότι επιβεβαιώθηκαν ήδη γνωστά εμπλεκόμενα γονίδια στον καρκίνο του στομάχου (*TP53*, *ARID1A* and *CDH1*) και ότι ανιχνεύθηκαν και καινούρια γονίδια (*MUC6*, *CTNNA2*, *GLI3*, *RNF43* και άλλα που φαίνονται αναλυτικά στον πίνακα 7.7). Παράλληλα, ανακάλυψαν επίσης *RHOA* μεταλλάξεις σε περίπου 15% των διαχύτου τύπου καρκίνων αλλά όχι σε εντερικού-τύπου γαστρικούς καρκίνους. Οι συγγραφείς αυτής της σημαντικής μελέτης κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα αποτελέσματά τους αναδεικνύουν περίτρανα την πολυπλοκότητα και την ετερογένεια του γαστρικού καρκίνου και υποστηρίζουν ότι μια νέα εξατομικευμένη εποχή για την αντιμετώπιση με βάση το γονιδίωμα του γαστρικού καρκίνου έχει ήδη ξεκινήσει [177].

Πρόσφατα, μια άλλη παρόμοια μελέτη για τον καρκίνο του στομάχου δημοσιεύθηκε από τον Wong SS και συν [176]. Η ανάλυση έγινε σε 49 ζεύγη καρκινικών-φυσιολογικών γαστρικών ιστών. Τριανταένα δείγματα διάχυτου τύπου καρκίνοι και 18 δείγματα εντερικού τύπου συμπεριελήφθησαν στην μελέτη αυτή. Εκτός από τα υπόλοιπα γονίδια που προέκυψαν από την μελέτη αυτή (πίνακας 7.7) οι ερευνητές έδωσαν ιδιαίτερη βαρύτητα στις συχνές και αποκλειστικές μεταλλάξεις που παρατηρήθηκαν στα γονίδια *Ephrins* και *SLIT/ROBO*. Οι συγγραφείς συμπεραίνουν ότι η μελέτη τους προσφέρει νέα σημαντικά δεδομένα όσον αφορά την γενετική ετερογένεια του γαστρικού καρκίνου [176].

Έχοντας μελετήσει τις παρόμοιες μελέτες που έχουν δημοσιευθεί μέχρι σήμερα, στο σημείο αυτό πρέπει να τονιστεί ότι η δική μας γενετική ανάλυση με τεχνολογίες επόμενης γενιάς που περιλαμβάνει το κωδικοποιούμενο τμήμα του γονιδιώματος (Next Generation Sequencing-WES analyses) αποτελεί την πρώτη ανάλυση αυτού του είδους που γίνεται στην Ελλάδα και στην Ευρώπη.

Πρέπει να τονιστεί ότι στην μελέτη μας συμπεριελήφθησαν 2 ζεύγη καρκινικών-φυσιολογικών γαστρικών ιστών. Στην μελέτη μας επιβεβαιώθηκαν μεμονωμένοι νουλεοτιδικοί πολυμορφισμοί που υπάρχουν σε γνωστές βάσεις δεδομένων και επίσης ανευρέθηκε μεγάλος αριθμός νέων μεμονωμένων νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs). Επίσης, οι εισδοχές-διαγραφές-[InDels] στην δική μας ανάλυση με την περιοδικότητα που αποδείχτηκε λόγω του μικρού αριθμού των δειγμάτων μας

φαίνεται να έχουν σχετικά μικρή επίδραση στο γονιδίωμα των ασθενών σε σχέση με τις μεταλλάξεις που ορίζονται ως καθοριστικές (frameshift InDels).

Επιπρόσθετα, από τα πιο σημαντικά ευρήματα της μελέτης μας είναι οι σωματικές μεταλλάξεις. Οι μεταλλάξεις που προέκυψαν ήταν για το πρώτο ζεύγος φυσιολογικού-καρκινικού γαστρικού ιστού 137, εκ των οποίων οι 121 μεταλλάξεις ανευρίσκονται για πρώτη φορά. Πιο αναλυτικά προέκυψαν 69 μεταλλάξεις C:G-T:A, 27 μεταλλάξεις C:G-A:T, 13 T:A-C:G, 10 μεταλλάξεις T:A-A:T, 10 μεταλλάξεις C:G-G:C και 8 μεταλλάξεις T:A-G:C. Όσον αφορά το δεύτερο ζεύγος φυσιολογικού-καρκινικού γαστρικού ιστού προέκυψαν 2.309 μεταλλάξεις, εκ των οποίων οι 2008 μεταλλάξεις ανευρίσκονται για πρώτη φορά. Πιο αναλυτικά προέκυψαν 1495 μεταλλάξεις C:G-T:A, 360 μεταλλάξεις C:G-A:T, 252 μεταλλάξεις T:A-C:G, 93 μεταλλάξεις T:A-G:C, 89 μεταλλάξεις T:A-A:T και 20 μεταλλάξεις C:G-G:C. Συμπεραίνουμε λοιπόν, επιβεβαιώνοντας έτσι και τα ευρήματα από τις δύο αντίστοιχες δημοσιευμένες μελέτες για τον καρκίνο του στομάχου με παρόμοιες γενετικές αναλύσεις με τεχνολογίες επόμενης γενιάς [175,176], ότι οι πιο συχνές μεταλλάξεις στον καρκίνο του στομάχου είναι οι μεταλλάξεις C:G-T:A.

Επιπλέον, το πιο σημαντικό αποτέλεσμα της μελέτης μας είναι η λίστα των γονιδίων που ανευρέθηκε (πίνακας 7.7).

Όπως αναδεικνύεται από τον παραπάνω πίνακα δεν υπάρχει καμμία αμφιβολία ότι ο καρκίνος του στομάχου διέπεται από μεγάλη ετερογένεια. Σημαντικό εύρημα αποτελεί το γεγονός ότι επιβεβαιώθηκαν 4 γονίδια από τη δική μας μελέτη (*RNF43*, *TP53*, *DEFB118*, *RNF213*) που έχουν ήδη ανευρεθεί στις άλλες μελέτες ή περιλαμβάνονται ήδη στην βάση δεδομένων COSMIC (πίνακας 7.7). Τα υπόλοιπα 28 γονίδια που προέκυψαν (πίνακας 7.7) από την δική μας μελέτη δεν υπάρχουν σε άλλες βάσεις δεδομένων και δεν προκύπτουν από παρόμοιες μελέτες. Ωστόσο επειδή οι ασθενείς που συμπεριελήφθησαν στην δική μας μελέτη ήταν μόνο δύο, δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι χρειάζονται νέες μελέτες με μεγαλύτερη σειρά ασθενών ώστε να επιβεβαιωθεί ή να καταρριφθεί ο πιθανός ρόλος των συγκεκριμένων γονιδίων στον καρκίνο του στομάχου. Παράλληλα στοχεύουμε στο μέλλον να γίνει γονιδιακή ανάλυση και τους υπόλοιπους 14 ασθενείς τα δείγματα ιστών των οποίων βρίσκονται αποθηκευμένα στη Βιοτράπεζα του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην αναδρομική κλινική μας ανάλυση, οι υπέρβαροι ασθενείς με καρκίνο στομάχου συγκρινόμενοι με ασθενείς με φυσιολογικό βάρος βρέθηκε ότι παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από θεραπευτική γαστεκτομή. Επιπλέον, σύμφωνα με τα δικά μας ευρήματα, ο υψηλός δείκτης μάζας-σώματος (BMI) και η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) αποτελούν δείκτες φτώχης επιβίωσης σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου. Παρόλα αυτά, μελλοντικές προοπτικές μελέτες με μεγαλύτερη σειρά ασθενών είναι απαραίτητες ώστε να ελεγχθεί ο ρόλος του δείκτη μάζας-σώματος σε σχέση με τον κίνδυνο υποτροπής και σε σχέση με την επιβίωση σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου.

Όσον αφορά το γενετικό σκέλος της παρούσας μελέτης πρέπει συμπερασματικά να σημειωθεί ότι ανευρέθησαν πολλοί νέοι μεμονωμένοι νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί και προέκυψε ότι οι πιο συχνές μεταλλάξεις στον καρκίνο στομάχου είναι οι μεταλλάξεις C:G-T:A. Επιβεβαιώσαμε επίσης 4 γονίδια που ανευρέθηκαν επίσης σε παρόμοιες γενετικές αναλύσεις για τον καρκίνο στομάχου. Επιπλέον ανευρέθηκαν για πρώτη φορά στην μελέτη μας 28 γονίδια που ίσως να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην γαστρική καρκινογένεση. Καινούριες μελέτες με πολύ περισσότερα κλινικά δείγματα ασθενών είναι απαραίτητες έτσι ώστε να επιβεβαιωθούν ή να καταρριφθούν τα ευρήματά μας. Είναι προφανές ότι με την γενετική ανάλυση σε δείγματα 2 ασθενών που συμπεριελήφθησαν στην παρούσα μελέτη δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή στατιστικά συμπεράσματα για έναν τόσο πολύπλοκο και ετερογενές τύπο καρκίνου. Συμπερασματικά, είναι σίγουρο ότι οδεύουμε στην εποχή των αναλύσεων του γονιδιώματος για διάφορους τύπους καρκίνου με τεχνολογίες επόμενης γενιάς. Αυτές οι πρωτοποριακές γενετικές αναλύσεις δημιουργούν σημαντικές μελλοντικές προσδοκίες για την αντιμετώπιση διαφόρων τύπων καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του στομάχου. Η ανίχνευση σωματικών μεταλλάξεων και εμπλεκόμενων γονιδίων μπορεί να έχει στο μέλλον δύο εφαρμογές [198]. Πρώτον, την ανακάλυψη ισχυρών βιοδεικτών έτσι ώστε να προλαμβάνεται τόσο η υποτροπή όσο και η ‘θεραπευτική’ αντοχή στα χημειοθεραπευτικά

φάρμακα και δεύτερον, την ανακάλυψη φαρμάκων επόμενης γενιάς. Όλα αυτά τα νέα δεδομένα παρέχουν βάσιμες προσδοκίες για την πραγματική εξατομικευμένη αντιμετώπιση και συνεπώς την βελτίωση των ποσοστών επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο στομάχου [199].

Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Ιατρική Σχολή

Χειρουργική Κλινική

Διευθυντής: Καθηγητής Χ. Κάτσιος

Τίτλος μελέτης: Προγνωστικοί παράγοντες και εξατομικευμένη χειρουργική
στον καρκίνο του στομάχου

Υπό: Γεωργίου Δ. Λιανού

10. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του στομάχου αποτελεί την τέταρτη πιο συχνή κακοήθεια και τη δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου σχετιζόμενη με καρκίνο παγκοσμίως. Παρόλες τις προσπάθειες που έχουν γίνει τα τελευταία χρόνια, η πενταετής επιβίωση των ασθενών που πάσχουν από την επιθετική αυτή νόσο είναι ακόμη και σήμερα πολύ φτωχή. Ο σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι διπλός. Πρώτα, μέσα από την ανάλυση των ασθενών μας, να καθοριστούν παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή και να καθοριστούν παράγοντες που έχουν επίπτωση στην επιβίωση των ασθενών με καρκίνο στομάχου.

Έπειτα, προσπάθεια καθορισμού, μέσω γενετικής ανάλυσης με τεχνολογίες επόμενης γενιάς του κωδικοποιούμενου τμήματος του γονιδιώματος (Next Generation Sequencing-Whole Exome Sequencing analyses) σε καρκινικούς-φυσιολογικούς γαστρικούς ιστούς, πιθανών μεταλλάξεων, γενετικών πολυμορφισμών και πιθανών εμπλεκόμενων γονιδίων στον καρκίνο του στομάχου.

Μελετήθηκαν αναδρομικά 104 ασθενείς με καρκίνο στομάχου. Η μονοπαραγοντική στατιστική ανάλυση που διενεργήθηκε δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση όσον αφορά την ηλικία των ασθενών, την εντόπιση της νόσου, το στάδιο κατά TNM, την διαφοροποίηση των νεοπλασμάτων, το κατά Lauren στάδιο, την παρουσία περινευρικής και αγγειακής διήθησης, τον αριθμό των εξαιρεθέντων λεμφαδένων στο παρασκευάσμα, την αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) και την παρουσία μετεγχειρητικών επιπλοκών στη δική μας μελέτη ($p>0,05$).

Αντιθέτως, αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ ασθενών με υψηλό δείκτη μάζας σώματος (BMI) και την πιθανότητα εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από χειρουργείο για καρκίνο στομάχου ($p=0,002$). Στη συνέχεια, διενεργήθηκε πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση. Η ανάλυση αυτή επιβεβαίωσε την στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα σε ασθενείς με υψηλό δείκτη μάζας-σώματος ($BMI \geq 25$) και την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών σε ασθενείς που χειρουργήθηκαν για καρκίνο στομάχου ($p=0,004$). Επιπλέον, προέκυψε ότι η μέγιστη διάμετρος του νεοπλάσματος (Max tumor diameter) παρουσιάζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πιθανότητα εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών στη σειρά μας ($p=0,027$). Πρέπει επίσης να τονίσουμε ότι κανένας άλλος παράγοντας που μελετήθηκε στην πολυπαραγοντική ανάλυση δεν αναδείχθηκε να έχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πιθανότητα εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών μετά από χειρουργείο για καρκίνο στομάχου ($p>0,05$).

Επιπρόσθετα, στη συγκεκριμένη μελέτη διενεργήθηκε μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση επιβίωσης. Η μελέτη μας ανέδειξε ότι ο δείκτης μάζας-σώματος (BMI) διαδραματίζει σημαντικό προγνωστικό ρόλο όσον αφορά την επιβίωση ασθενών με εξαιρεσίμο καρκίνο στομάχου. Η ανάλυση μας (Cox regression) ανέδειξε τη στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα σε ασθενείς με υψηλό δείκτη μάζας σώματος και φτωγή επιβίωση μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή για καρκίνο στομάχου ($p=0,005$).

Η μονοπαραγοντική στατιστική ανάλυση, ανέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του τελικού σταδίου της νόσου ($p=0,000$), της παρουσίας περινευρικής και αγγειακής διήθησης ($p=0,000$) και της μέγιστης διαμέτρου του νεοπλάσματος ($p=0,020$) με την επιβίωση των ασθενών μετά από θεραπευτική γαστρεκτομή για καρκίνο στομάχου. Παράλληλα, πρέπει να τονιστεί ότι άγγιξε το όρια

της στατιστικής σημαντικότητας μετά από την μονοπαραγοντική μας ανάλυση, η διαφοροποίηση των νεοπλασμάτων σε σχέση με την επιβίωση των ασθενών ($p=0,062$) με καθαρή υπεροχή της καλύτερης επιβίωσης σε ασθενείς με καλής-υψηλής διαφοροποίησης νεοπλάσματα.

Από την πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης που διενεργήθηκε στην προσπάθεια ανεύρεσης ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων, προέκυψε ότι εκτός από τον δείκτη μάζας σώματος (BMI) ($p=,005$) των ασθενών, η ηλικία των ασθενών ($p=0,001$) και η αναλογία των διηθημένων λεμφαδένων (LN ratio) ($p=0,000$) αποτελούν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες επιβίωσης σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου. Οι υπόλοιποι παράμετροι που συμπεριελήφθησαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση, δεν αναδείχθηκαν στατιστικά σημαντικοί.

Για την γενετική ανάλυση συμπεριελήφθησαν 2 ζεύγη καρκινικών-φυσιολογικών γαστρικών ιστών. Στην μελέτη μας επιβεβαιώθηκαν μεμονωμένοι νουλεοτιδικοί πολυμορφισμοί που υπάρχουν σε γνωστές βάσεις δεδομένων και επίσης ανευρέθηκε μεγάλος αριθμός νέων μεμονωμένων νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs).

Επίσης, οι εισδοχές-διαγραφές-[InDels] στην δική μας ανάλυση με την περιοδικότητα που αποδείχτηκε λόγω του μικρού αριθμού των δειγμάτων μας φαίνεται να έχουν σχετικά μικρή επίδραση στο γονιδίωμα των ασθενών.

Οι μεταλλάξεις που προέκυψαν ήταν για το πρώτο ζεύγος φυσιολογικού-καρκινικού γαστρικού ιστού 137, εκ των οποίων οι 121 μεταλλάξεις ανευρίσκονται για πρώτη φορά. Πιο αναλυτικά προέκυψαν 69 μεταλλάξεις C:G-T:A, 27 μεταλλάξεις C:G-A:T, 13 T:A-C:G, 10 μεταλλάξεις T:A-A:T, 10 μεταλλάξεις C:G-G:C και 8 μεταλλάξεις T:A-G:C.

Όσον αφορά το δεύτερο ζεύγος φυσιολογικού-καρκινικού γαστρικού ιστού προέκυψαν 2.309 μεταλλάξεις, εκ των οποίων οι 2008 μεταλλάξεις ανευρίσκονται για πρώτη φορά. Πιο αναλυτικά προέκυψαν 1495 μεταλλάξεις C:G-T:A, 360 μεταλλάξεις C:G-A:T, 252 μεταλλάξεις T:A-C:G, 93 μεταλλάξεις T:A-G:C, 89 μεταλλάξεις T:A-A:T και 20 μεταλλάξεις C:G-G:C. Επιβεβαιώσαμε τις πιο συχνές μεταλλάξεις στον καρκίνο στομάχου (C:G-T:A) σε σχέση με άλλες μελέτες που υπάρχουν στην βιβλιογραφία.

Επιβεβαιώσαμε επίσης 4 γονίδια (*RNF43*, *TP53*, *DEFB118*, *RNF213*) που ανευρέθηκαν επίσης σε παρόμοιες γενετικές αναλύσεις για τον καρκίνο στομάχου.

Επιπλέον ανευρέθηκαν για πρώτη φορά στην μελέτη μας 28 γονίδια που ίσως να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην γαστρική καρκινογένεση. Καινούριες μελέτες με πολύ περισσότερα κλινικά δείγματα ασθενών είναι απαραίτητες έτσι ώστε να επιβεβαιωθούν ή να καταρριφθούν τα ευρήματά μας.

University of Ioannina

Medical School

Department of General Surgery

Head of the Department: Professor C. Katsios

Study title: Prognostic factors and personalized surgery of gastric cancer

Author: Georgios D. Lianos

11. SUMMARY

Gastric cancer constitutes the fourth most common type of cancer and the second cause of death related with cancer worldwide. Although the efforts that have been made in this setting the last years, the 5-year survival of patients with this aggressive type of cancer remains poor. The aim of the present study is double. Firstly, to identify risk factors associated with post-operative complications after curative gastrectomy as well as to identify prognostic factors for patients with gastric cancer. Secondly, to make an effort to identify with next generation-whole exome sequencing analyses in pairs of tumor-normal gastric tissues, potential mutations, genetic polymorphisms and to provide a list with potential involved genes in gastric carcinogenesis.

We analysed retrospectively 104 gastric cancer patients. Univariate analyses did not revealed statistically important association between age of patients, tumor's site, TNM stage, tumor differentiation, Lauren stage, perineural and vascular invasion, number of resected lymph nodes, LN ratio and high risk of post-operative complications ($p>0,05$). Contrarily, an important relationship was

revealed between high BMI and the high risk of post-operative complications after curative gastrectomy ($p=0,002$). After that, multiple logistic regression analysis was performed. This analyses confirmed the robust relationship between high BMI ($BMI \geq 25$) and the incidence of post-operative complications after gastrectomy ($p=0,004$). Moreover, we have revealed that max tumor diameter is importantly associated with the risk of post-operative complications in our study ($p=0,027$). We have to highlight that none of the other parameters included in the multivariate analyses revealed associated with the incidence of post-operative complications ($p>0,05$). In addition, in the present study univariate and multivariate survival analyses was performed. Our study revealed that BMI plays an important prognostic role in patient with resectable gastric cancer. Cox regression analyses revealed the statistically important relationship between high BMI and poor survival after curative gastrectomy for gastric cancer ($p=0,005$). Univariate survival analyses revealed important relationship between final stage ($p=0,000$), perineural and vascular invasion ($p=0,000$) and max tumor diameter ($p=0,020$) with patient's survival after potential curative gastrectomy for gastric cancer. Moreover, we have to highlight that tumor differentiation was revealed almost statistically significant after our univariate survival analyses ($p=0,062$) with obviously better overall survival rates for patients with high tumor differentiation. Our multivariate survival analyses, revealed high patients' BMI ($p=,005$), age of patients ($p=0,001$) and LN ratio ($p=0,000$) as independent prognostic factors of survival for patients with gastric cancer. The other parameters included in our multivariate survival analyses did not revealed statistically important.

For our Next Generation Sequencing analyses 2 pairs of tumor-normal gastric tissues were included. We have confirmed single nucleotide polymorphisms (SNPs) included in known databases and we have identified a high number of novel SNPs. Moreover, insertions/deletions [InDels] identified in our study with this specific periodicity maybe because of the small number of our samples it seems that they have a little impact in the genome of our patients. In addition, we have identified for the first pair of tumor-normal gastric tissue 137 somatic mutations, 121 of which are novel. In detail, we have identified 69 C:G-T:A mutations, 27 C:G-A:T mutations, 13 T:A-C:G mutations, 10 T:A-A:T mutations, 10 C:G-G:C mutations and 8 T:A-G:C mutations. For the second pair of tumor-normal

gastric tissue we have identified 2,309 mutations, 2,008 of which are novel. In detail, we have identified 1,495 C:G-T:A mutations, 360 C:G-A:T mutations, 252 T:A-C:G mutations, 93 T:A-G:C mutations, 89 T:A-A:T mutations and 20 C:G-G:C mutations. We have confirmed that the most common mutations in gastric cancer are C:G-T:A mutations. Furthermore, we have confirmed 4 genes (*RNF43*, *TP53*, *DEFB118*, *RNF213*) identified also in other similar next generation sequencing analyses for gastric cancer. Moreover, we have identified for the first time 28 genes that maybe play an important role in gastric carcinogenesis. However, more next generation sequencing studies with much more clinical samples are necessary in order to investigate further our findings.

Γ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Billroth T. Offenes schreiben an Herrn Dr. Wittelshofer. Wien Med Wochenschr 1881;31:162–5.
2. Cabanne F, Gèrard-Marchant R, Destaing F. Storia del cancro. 1990;Band 5, Salzburg.
3. Hindmarsh JT, Corso PF. The death of Napoleone Bonaparte: a critical review of the cause. J Hist Med Allied Sci 1998;53:201–18.
4. Laennec RTH, quoted by Welch WH. Cancer of the stomach. In: Pepper W, Starr L, editors. A system of practical medicine, vol 2. Philadelphia: Lea Brothers, 1885.
5. Pèan JE. De l'ablation des tumeurs de l'estomac par la gastrectomie. Gaz Hop 1879;52:473–5.
6. Rutkow IM. Storia illustrata della Chirurgia. Roma: Antonio Delfino Editore; 1996.
7. Santoro E, Ragno L. Cento Anni di Chirurgia. Storia e Cronache della Chirurgia Italiana del XX° Secolo. Edizioni Scientifiche Romane, 2000.
8. Sawyers JL. Gastric carcinoma. Curr Probl Surg 1995;32(2):101–78.
9. Sterpellone L. Stratigrafia di un passato. Storie parallele della Medicina. Ed. Milano: Puntoelina, 1990.
10. Eugenio Santoro. The history of gastric cancer: legends and chronicles. Gastric Cancer (2005) 8: 71–74.
11. Raufman J, Goldberg E. Stomach and Duodenum: Anatomy and Structural Anomalies. Textbook of Gastroenterology 2008 (ed T.Yamada), Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK
12. Soybel DI. Anatomy and physiology of the stomach. Surg Clin North Am 2005;85(5):875-94
13. Ramsay PT, Carr A. Gastric acid and digestive physiology. Surg Clin North Am 2011;91(5):977-82
14. Rohr S. Anatomy and physiology of the normal stomach. Soins Chir 1986;70-71:4-8
15. Ollier JC. Stomach cancers. Anatomy and physiology of the stomach. Soins Chir 1996;(180)6-11

16. Daniels IR, Allum WH. The Anatomy and Physiology of the stomach. 2005;17-37. Upper Gastrointestinal Surgery. Fielding J, Hallissey M (Edt) 2005, Springer New York
17. Heerden J. Surgical Anatomy and Physiology of the Stomach. 1985;61-65. Manual of Upper Gastrointestinal Surgery. Springer New York
18. Gelberg HB. Comparative anatomy, physiology, and mechanisms of disease production of the esophagus, stomach, and small intestine. *Toxicol Pathol.* 2014;42(1):54-66.
19. Read NW, Houghton LA. Physiology of gastric emptying and pathophysiology of gastroparesis. *Gastroenterol Clin North Am.* 1989;18(2):359-73
20. Houghton LA, Read NW, Heddle R et al. Relationship of the motor activity of the antrum, pylorus, and duodenum to gastric emptying of a solid-liquid mixed meal. *Gastroenterology.* 1988;94(6):1285-91
21. Feldman SE. Blood supply to stomach. *Calif Med.* 1970; 112(4): 55.
22. Walsham WJ. Observations on the Coronary Veins of the Stomach. *J Anat Physiol.* 1880;14(Pt 4): 399–403.
23. Alexander JS, Ganta VC, Jordan PA et al. Gastrointestinal lymphatics in health and disease. *Pathophysiology.* 2010;17(4):315-35.
24. Langheinrich MC, Schellerer V, Perrakis A et al. Molecular mechanisms of lymphatic metastasis in solid tumors of the gastrointestinal tract. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012;5(7):614-23.
25. Furness JB, Callaghan BP, Rivera LR et al. The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: integrated local and central control. *Adv Exp Med Biol.* 2014;817:39-71
26. Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9(5):286-94
27. Jemal A, Bray F, Center MM et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61(2):69-90.
28. Torre LA, Bray F, Siegel RL et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(2):87-108

29. Roukos DH, Kappas AM. Perspectives in the treatment of gastric cancer. *Nat Clin Pract Oncol.* 2005;2(2):98-107.
30. Rausei S, Dionigi G, Rovera F et al. A decade in gastric cancer curative surgery: Evidence of progress (1999-2009). *World J Gastrointest Surg.* 2012;4(3):45-54
31. Catalano V, Labianca R, Beretta GD et al. Gastric Cancer. *Critical Reviews in Oncology/Ematology* 71 (2009) 127-164.
32. Eslick GD. Helicobacter pylori infection causes gastric cancer? A review of the epidemiological, meta-analytic, and experimental evidence. *World J Gastroenterol* 2006;12:2991-2999.
33. Ziogas D, Roukos DH. CDH1 testing: can it predict the prophylactic or therapeutic nature of total gastrectomy in hereditary diffuse gastric cancer? *Ann Surg Oncol.* 16(10), 2678-81 (2009).
34. Lynch HT, Kaurah P, Wirtzfeld D et al. Hereditary diffuse gastric cancer: diagnosis, genetic counseling, and prophylactic total gastrectomy. *Cancer.* 112, 2655–63 (2008).
35. Kaurah P, MacMillan A, Boyd N et al. Founder and recurrent CDH1 mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer. *JAMA.* 2007;297:2360–72.
36. Hartgrink HH, Jansen E PM, Van Grieken N CT, Van de Velde C JH. Gastric Cancer. *Lancet* 2009 ;374(9688):477-90.
37. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001;345:784-789.
38. Espero RH, Navarette SJ. Classification of stomach adenocarcinomas. *Rev Gastroenterol Peru.* 2003;23(3):199-212.
39. Hofman P, Waidner B, Hofman V, Bereswill S, Brest P, Kist M. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2004; 9 Suppl 1: 15-22.
40. Si Chun Ming. Cellular and molecular pathology of gastric cancer and precursor lesions: A critical review. *Gastric Cancer* 1998;1:31-50.

41. 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.
42. Japanese Research Society for Gastric Cancer: The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. I: Clinical classification. *Jpn J Surg* 1981;11:126.
43. Siddavaram Nagini Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World J Gastrointest Oncol* 2012;4(7):156-169.
44. Shi J, Qu YP, Hou P. Pathogenetic mechanisms in gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2014;20(38):13804-19.
45. Roder D. The epidemiology of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2002;5 (Suppl 1).
46. Chirurgia – Dionigi R. Basi teoriche e chirurgia generale, quinta edizione. Elsevier -2011.
47. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007; 57: 43-66.
48. Krejs GJ. Gastric cancer: epidemiology and risk factors. *Dig Dis* 2010; 28: 600-603.
49. Muntean V, Mihailov A, Iancu C et al. Staging laparoscopy in gastric cancer. Accuracy and impact on therapy. *J Gastrointest Liver Dis.* 2009;18(2):189-95.
50. Wang F, Gao J, Liang P. Application value of CT spectrum curve and iodine measurement in the early diagnosis of gastric cancer. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* 2015;18(3):243-7
51. Wu CX, Zhu ZH. Diagnosis and evaluation of gastric cancer by positron emission tomography. *World J Gastroenterol.* 2014;20(16):4574-85.
52. Convie L, Thompson RJ, Kennedy R et al. The current role of staging laparoscopy in oesophagogastric cancer. *Ann R Coll Surg Engl.* 2015;97(2):146-50
53. Scartozzi M, Pistelli M, Bittoni A et al. Novel perspectives for the treatment of gastric cancer: from a global approach to a personalized strategy. *Curr. Oncol. Rep.* 2010;12(3):175-85.
54. Bozzetti F, Marubini E, Bonfanti G, et al. Total versus subtotal gastrectomy: surgical morbidity and mortality rates in a multicenter Italian randomized trial. *The Italian*

- Gastrointestinal Tumor Study Group. *Ann. Surg.* 1997;226(5):613–20.
55. De Manzoni G, Verlato G, Roviello F, et al. Subtotal versus total gastrectomy for T3 adenocarcinoma of the antrum. *Gastric Cancer.* 2003; 6: 237-242.
56. Gockel I, Pietzka S, Gönner U, et al. Subtotal or total gastrectomy for gastric cancer: impact of the surgical procedure on morbidity and prognosis—analysis of a 10-year experience. *Langenbecks Arch Surg.* 2005;390:148-155
57. Brennan MF. Current status of surgery for gastric cancer: a review. *Gastric Cancer.* 2005;8(2):64-70.
58. Karanicolas PJ, Graham D, Gönen M, et al. Quality of life after gastrectomy for adenocarcinoma: a prospective cohort study. *Ann. Surg.* 2013;257(6):1039-46.
59. Davies J, Johnston D, Sue-Ling H, et al. Total or subtotal gastrectomy for gastric carcinoma? A study of quality of life. *World J. Surg.* 1998;22(10):1048–55.
60. Ishikawa M, Kitayama J, Kaizaki S, et al. Prospective randomized trial comparing Billroth I and Roux-en-Y procedures after distal gastrectomy for gastric carcinoma. *World J. Surg.* 2005;29:1415–1420.
61. Zong L, Chen P. Billroth I vs. Billroth II vs. Roux-en-Y following distal gastrectomy: a meta-analysis based on 15 studies. *Hepatogastroenterology.* 2011;58(109):1413-24
62. Viste A, Haugstvedt T, Eide GE, et al. Postoperative complications and mortality after surgery for gastric cancer. *Ann. Surg.* 1988; 207(1):7–13
63. An JY, Youn HG, Choi MG, et al. The difficult choice between total and proximal gastrectomy in proximal early gastric cancer. *Am. J. Surg.* 2008;196:587–591.
64. Siewert JR, Stein HJ. Classification of adenocarcinoma of the oesophagogastric junction. *Br. J. Surg.* 1998;85(11):1457–9.
65. Barbour AP, Rizk NP, Gonen M, et al. Lymphadenectomy for adenocarcinoma of the gastroesophageal junction (GEJ): impact of adequate staging on outcome. *Ann. Surg. Oncol.* 2007;14(2):306–316.
66. Uzunoglu FG, Reeh M, Kutup A, et al. Surgery of esophageal cancer. *Langenbecks Arch. Surg.* 2013;398(2):189-93.

67. Yu W, Choi GS, Chung HY. Randomized clinical trial of splenectomy versus splenic preservation in patients with proximal gastric cancer. *Br. J. Surg.* 2006; 93: 559-563
68. Pacelli F, Cusumano G, Rosa F, et al. for the Italian Research Group for Gastric Cancer (IRGGC). Multivisceral Resection for Locally Advanced Gastric Cancer: An Italian Multicenter Observational Study. *JAMA Surg.* 2013;148(4):353-360.
69. Coburn NG, Swallow CJ, Kiss A, et al. Significant regional variation in adequacy of lymph node assessment and survival in gastric cancer. *Cancer.* 2006;107:2143–2151.
70. 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
71. Washington K. 7th edition of the AJCC cancer staging manual: stomach. *Ann. Surg. Oncol.* 2010;17(12), 3077–3079.
72. NCCN (National Comprehensive Cancer Network). National Comprehensive Cancer Network Guidelines 2012. www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site
73. Yoon SS, Yang HK. Lymphadenectomy for gastric adenocarcinoma: should west meet east? *Oncologist* 14(9), 871–882 (2009).
74. Sano T, Aiko T. New Japanese classifications and treatment guidelines for gastric cancer: revision concepts and major revised points. *Gastric Cancer* 2011;14(2), 97–100.
75. Japanese Research Society for Gastric Cancer. The general rules for the gastric cancer study in surgery. *Jpn. J. Surg.* 1973;3:61.
76. Nishi M, Omori Y, Miwa K. Japanese Classification of Gastric Carcinoma. Kanehara & Co., Ltd; 1995.
77. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2010 (ver. 3). *Gastric Cancer.* 2011 Jun;14(2):113-23.
78. Roukos DH, Lorenz M, Encke A. Evidence of survival benefit of extended (D2) lymphadenectomy in western patients with gastric cancer based on a new concept: a prospective long-term follow-up study. *Surgery* 1998;123(5):573-8

79. Pacelli F, Doglietto GB, Bellantone R, Alfieri S, Sgadari A, Crucitti F. Extensive versus limited lymph node dissection for gastric cancer: a comparative study of 320 patients. *Br J Surg.* 1993;80(9):1153-6
80. Yildirim E. Turkish experience with curative gastrectomies for gastric carcinoma. *J Am Coll Surg* 2001;192:25-37
81. Cuschieri A, Weeden S, Fielding J, et al. Patient survival after D1 and D2 resections for gastric cancer: long-term results of the MRC randomized surgical trial. Surgical Co-operative Group. *Br. J. Cancer.* 1999;79(9–10):1522–1530.
82. Bonenkamp JJ, Songun I, Hermans J, et al. Randomised comparison of morbidity after D1 and D2 dissection for gastric cancer in 996 Dutch patients. *Lancet.* 1995;345 (8952):745–748.
83. Degiuli M, Sasako M, Ponti A, et al. Survival results of a multicentre phase II study to evaluate D2 gastrectomy for gastric cancer. *Br. J. Cancer.* 2004; 90: 1727-1732.
84. Edwards P, Blackshaw GR, Lewis WG, et al. Prospective comparison of D1 vs modified D2 gastrectomy for carcinoma. *Br. J. Cancer.* 2004; 90:1888-1892
85. Nakajima T. Gastric Cancer treatment guidelines in Japan. *Gastric Cancer* 2002;5(1):1-5.
86. Songun I, Putter H, Kranenbarg EM, Sasako M, van de Velde CJ. Surgical treatment of Gastric Cancer: 15 years follow up results of the randomised nationwide Dutch D1D2 trial. *Lancet* 2010;11(5):439-49
87. Rausei S, Dionigi G, Sano T, et al. Updates on surgical management of advanced gastric cancer: new evidence and trends. Insights from the First International Course on Upper Gastrointestinal Surgery--Varese (Italy), December 2, 2011. *Ann. Surg. Oncol.* 2013;20(12):3942-7.
88. Sasako M, Sano T, Yamamoto S, et al. D2 lymphadenectomy alone or with para-aortic nodal dissection for gastric cancer. *N. Engl. J. Med.* 2008;359(5):453–462.
89. Bali CD, Lianos GD, Roukos DH. Gastric cancer guidelines and genome differences between Japan and the west. *Future Oncol.* 2013;9(8):1053-6.

90. Stomach. In: Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al., eds.: *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York, NY: Springer, 2010, pp 117-26.
91. Rausei S, Boni L, Rovera F, et al. Locally advanced gastric cancer: a new definition to standardise. *J. Clin. Pathol.* 2013;66(2):164-5.
92. Gockel I, Pietzka S, Gönner U, et al. Subtotal or total gastrectomy for gastric cancer: impact of the surgical procedure on morbidity and prognosis—analysis of a 10-year experience. *Langenbecks Arch Surg.* 2005; 390:148-155.
93. Gotoda T, Kusano C, Moriyasu F. Future perspective of gastric cancer endotherapy. *Ann Transl Med.* 2014;2(3):25.
94. Katsios C, Baltogiannis G, Roukos DH. Progress, challenges and new-genome-based concepts in the multidisciplinary treatment of gastric cancer. *Expert Rev. Anticancer Therapy* 2011;11(4):503-506
95. Lordick F, Siewert JR. Recent advances in multimodal treatment for gastric cancer: a review. *Gastric. Cancer* 2005;8:78–85.
96. Van de Velde CJ, Koen CMJ, et al. The gastric cancer treatment controversy. *J. Clin. Oncol.* 2003;21:2234.
97. Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T, et al. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. *N. Engl. J. Med.* 2007;357(18):1810–1820.
98. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, et al. MAGIC Trial Participants. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2006;355:11–20.
99. Bang Y-J, Kim Y-W, Yang H-K et al. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a Phase 3 open-label randomised controlled trial. *Lancet* 2012;379(9813), 315–321.
100. Rolfo C, Bronte G, Sortino G et al. The role of targeted therapy for gastrointestinal tumors. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;8(8):875-85.

101. Ychou M, Boige V, Pignon JP, et al. Perioperative chemotherapy compared with surgery alone for resectable gastroesophageal adenocarcinoma: an FNCLCC and FFCD multicenter phase III trial. *J. Clin. Oncol.* 2011;29:1715–21
102. Biffi R, Fazio N, Luca F, et al. Surgical outcome after docetaxel-based neoadjuvant chemotherapy in locally-advanced gastric cancer. *World J. Gastroenterol.* 2010;16:868–74.
103. Lee RT, Ramchandran K, Sanft T, Von Roenn J. Implementation of Supportive Care and Best Supportive care Interventions in Clinical Trials Enrolling Patients with Cancer. *Ann Oncol* 2015 [Epub ahead of print].
104. Karpeh MS. Palliative treatment and the role of surgical resection in gastric cancer. *Dig Surg* 2013;30(2):174-80
105. Taniguchi H, Tamura S, Takeno A et al. Efficacy of endoscopic gastroduodenal stenting for unresectable gastric cancer with gastric outlet obstruction. *Gan To Kagaku Ryoto* 2014;41(12):2334-6
106. Hong JH, Rho SY, Hong YS. Trends in the aggressiveness of end-of-life care for advanced stomach cancer patients. *Cancer Res Treat* 2013;45(4):270-5.
107. Orditura M, Galizia G, Sforza V et al. Treatment of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2014;20(7):1635-49
108. Ahn HS, Lee HJ, Hahn S, et al. Evaluation of the seventh American Joint Committee on Cancer / International Union Against Cancer Classification of gastric adenocarcinoma in comparison with the sixth classification. *Cancer.* 2010;116:5592–8.
109. Chae S, Lee A, Lee JH. The effectiveness of the new (7th) UICC N classification in the prognosis evaluation of gastric cancer patients: a comparative study between the 5th / 6th and 7th UICC N classification. *Gastric Cancer.* 2011;14:166–71
110. Suh YS, Han DS, Kong SH, et al. Should adenocarcinoma of the esophagogastric junction be classified as esophageal cancer? A comparative analysis according to the seventh AJCC TNM classification. *Ann. Surg.* 2012;255(5):908–15

111. Current Surgical Diagnosis and Treatment Gerard M. Doherty 12th edition 2005; McGraw-Hill Companies.
112. Roukos DH. Current status and future perspectives in gastric cancer management. *Cancer Treat Rev* 2000;26(4):243-55
113. Liakakos T, Roukos DH. More controversy than ever-challenges and promises towards personalized treatment of gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2008;15(4):956-60
114. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Eng J Med* 2001;345(10):725-30.
115. Tanaka N, Katai H, Taniguchi H et al. Trends in characteristics of surgically treated early gastric cancer patients after the introduction of gastric cancer treatment guidelines in Japan. *Gastric Cancer* 2010;13(2):74-7.
116. Cohen DJ, Leichman L. Controversies in the treatment of local and locally advanced gastric and esophageal cancers. *J Clin Oncol* 2015 [Epub ahead of print].
117. Ajani JA, Rodriguez W, Bodoky G, et al. Multicenter phase III comparison of cisplatin/S-1 with cisplatin/ infusional fluorouracil in advanced gastric or gastroesophageal adenocarcinoma study: the FLAGS trial. *J. Clin. Oncol.* 2010;28 (9):1547–1553.
118. Rausei S, Lianos GD, Proserpio I, et al. Neoadjuvant chemotherapy in locally advanced gastric cancer: what to avoid. Preliminary experience of a consecutive series of patients. *Tumori* 2015 [Epub ahead of print]
119. Wieser M, Sauerland S, Arnold D, et al. Peri-operative chemotherapy for the treatment of resectable liver metastases from colorectal cancer: a systematic review and meta-analyses of randomized trials. *BMC Cancer* 2010;10:309
120. Van Hagen P, Hulshof MC, van Lanschot JJ et al. Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer. *N Engl J Med* 2012;366(22):2074-84
121. Schirren R, Reim D, Novotny AR. Adjuvant and/or neoadjuvant therapy for gastric cancer? A perspective review. *Ther Adv Med Oncol* 2015;7(1):39-48

122. Wong RK, Jang R, Darling G. Postoperative chemoradiotherapy vs preoperative chemoradiotherapy for locally advanced (operable) gastric cancer: clarifying the role and technique of radiotherapy. *J Gastrointest Oncol* 2015;6(1):89-107
123. Saedi HS, Mansour-Ghanaei F, Joukar F et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy in non-cardia gastric cancer patients-does it improve survival? *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15(20):8667-71
124. Ronellenfitsch U, Schwarzbach M, Hofheinz R, et al. Perioperative chemo(radio)therapy versus primary surgery for resectable adenocarcinoma of the stomach, gastroesophageal junction and lower esophagus. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;5:CD008107
125. Ajani JA, Mansfield PF, Crane CH et al. Paclitaxel-based chemoradiotherapy in localized gastric carcinoma: degree of pathologic response and not clinical parameters dictated patient outcome. *J Clin Oncol* 2005;23(6):1237-44
126. Meyer HJ, Holscher AH, Lordick F, et al. Current S3 guidelines on surgical treatment of gastric carcinoma. *Chirurg* 2012;83(1):31-7
127. Kumagai K, Rouvelas I, Tsai JA et al. Survival benefit and additional value of preoperative chemoradiotherapy in resectable gastric and gastro-esophageal junction cancer: a direct and adjusted indirect comparison meta-analysis. *Eur J Surg Oncol* 2015;41(3):282-94
128. Shah MA. Update on metastatic gastric and esophageal cancers. *J Clin Oncol* 2015; [Epub ahead of print]
129. Ku GY, Ilson DH. Management of gastric cancer. *Curr Opin Gastroenterol* 2014;30(6):596-602
130. Dreanic J, Dhooge M, Sion E, et al. Gastric carcinoma in the era of targeted therapies. *Curr Drug Targets* 2015; [Epub ahead of print]
131. Nagaraja V, Eslick GD. HER2 expression in gastric and oesophageal cancer: a metaanalytic review. *J Gastrointest Oncol* 2015;6(2):143-54

132. Murphy A, Kelly RJ. From molecular classification to targeted therapeutics: the changing face of systemic therapy in metastatic gastroesophageal cancer. *Gastroenterol Res Pract* 2015;2015:896560
133. Thiel A, Ristimaki A. Targeted therapy in gastric cancer. *APMIS* 2015;123(5):365-372
134. Marano L, Roviello F. The distinctive nature of HER2-positive gastric cancers. *Eur J Surg Oncol* 2015;41(3):271-3
135. Iacovelli R, Pietrantonio F, Farcomeni A, et al. Chemotherapy or targeted therapy as second-line treatment of advanced gastric cancer: a systematic review and metaanalysis of published studies. *PloS One* 2014;9(9):e108940
136. Roukos DH. Targeting gastric cancer with trastuzumab: new clinical practice and innovative developments to overcome resistance. *Ann Surg Oncol* 2010;17(1):14-7
137. Yamamoto M, Rashid OM, Wong J. Surgical management of gastric cancer: the East vs. West perspective. *J Gastrointest Oncol.* 2015;6(1):79-88
138. D'Ugo D, Biondi A, Tufo A, Persiani R. Follow-up: the evidence. *Dig Surg.* 2013;30(2):159-68
139. Whiting J, Sano T, Saka M et al. Follow-up of gastric cancer: a review. *Gastric Cancer.* 2006;9(2):74-81
140. Miao RL, Wu AW. Towards personalized perioperative treatment for advanced gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2014;20(33):11586-94
141. Choi YY, An JY, Kim HI et al. Current practice of gastric cancer treatment. *Chin Med J (Engl).* 2014;127(3):547-53.
142. Kulhari H, Pooja D, Rompicharla SV et al. Biomedical Applications of Trastuzumab: As a Therapeutic Agent and a Targeting Ligand. *Med Res Rev.* 2015;doi: 10.1002/med.21345
143. Lee J, Kim KM, Kang WK, Ou SH. Innovative personalized medicine in gastric cancer: time to move forward. *Clin Genet.* 2014;86(1):37-43.
144. Liang H, Kim YH. Identifying molecular drivers of gastric cancer through next-generation sequencing. *Cancer Lett.* 2013;340(2):241-6

145. Pinheiro Ddo R, Ferreira WA, Barros MB et al. Perspectives on new biomarkers in gastric cancer: diagnostic and prognostic applications. *World J Gastroenterol*. 2014;20(33):11574-85.
146. Siewert JR, Bottcher K, Stein HJ, Roder JD. Relevant prognostic factors in gastric cancer: ten-year results of the German Gastric Cancer Study. *Ann Surg* 1998;228:449-461.
147. Medina-Franco H, et al. Clinicopathological characteristics of gastric carcinoma in young and elderly patients: a comparative study. *Ann Surg Oncol* 2000;7:515-519.
148. Maguire A, Porta M, Sanz-Anquela JM, Ruano I, Malats N, Pinol JL. Sex as a prognostic factor in gastric cancer. *Eur J Cancer* 1996;32A:1303-1309.
149. Tachibana M, Takemoto Y, Nakashima Y, et al. Serum carcinoembryonic antigen as a prognostic factor in resectable gastric cancer. *J Am Coll Surg* 1998;187:64-68.
150. Irinoda T, Terashima M, Takagane A, et al. Carcinoembryonic antigen level in peritoneal washing is a prognostic factor in patients with gastric cancer. *Oncol Rep* 1998;5:661-6.
151. Nitti D, Mocellin S, Marchet A et al. Recent Advances in Conventional and Molecular Prognostic Factors for Gastric Carcinoma. *Surg Oncol Clin N Am* 17 (2008) 467-483.
152. Kim JP, Lee JH, Kim SJ, Yu HJ, Yang HK. Clinicopathologic characteristics factors in 10,783 patients with gastric cancer. *Gastric Cancer* 1998;1(2):125-133.
153. Kologlu M, Kama NA, Reis E, Doganay M, Atli M, Dolapci M. A prognostic score for gastric cancer. *Am J Surg* 2000;179(6):521-6.
154. Zhang XF, Huang CM, Lu HS et al. Surgical treatment and prognosis of gastric cancer in 2613 patients. *World J Gastroenterol* 2004;10(23):3405-3408.
155. Marrelli D, De Stefano A, de Manzoni G, Morgagni P, Di Leo A, Roviello F. Prediction of recurrence after radical surgery for gastric cancer: a score system obtained from a prospective multicenter study. *Ann Surg* 2005;241(2):247-55.
156. Kodera Y, Yamamura Y, Shimizu Y et al. The number of metastatic lymph nodes: a promising prognostic determinant for gastric carcinoma in the latest edition of the TNM classification. *J Am Coll Surg* 1998; 187 (6): 597- 603.

157. Karpeh MS, Leon L, Klimstra D, Brennan MF. Lymph node staging in gastric cancer: is location more important than Number? An analysis of 1.038 patients. *Ann Surg* 2000;232(3):362-71.
158. Bando E, Yonemura Y, Taniguchi K, Fushida S, Fujimura T, Miwa K. Outcome of ratio of lymph node metastasis in gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2002;9(8):775-84.
159. Nitti D, Marchet A, Olivieri M et al. Ratio between metastatic and examined lymph node is an independent prognostic factor after D2 resection for gastric cancer: analysis of a large European monoinstitution experience. *Ann Surg Oncol* 2003;2(5):S54-7.
160. Persiani R, D'Ugo D, Rausei S, et al. Prognostic Indicators in Locally advanced Gastric Cancer (LAGC) treated With Preoperative Chemotherapy and D2-Gastrectomy. *Journ of Surg Onc*; 2005;89:227-236.]
161. Kim JH, Chin HM, Hwang SS, Jun KH. Impact of intra-abdominal fta on surgical outcome and overall survival of patients with gastric cancer. *Int J Surg* 2014;12(4):346-52
162. Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J et al. Familiar gastric cancer:genetic suscettibility, pathology, and implications for management. *Lancet Oncol* 2015;16(2):e60-70
163. Okines AF, Cunningham D. Trastuzumab in gastric cancer. *Eur J Cancer* 2010;46(11):1949-59
164. Pinheiro H, Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Hereditary diffuse gastric cancer-pathophysiology and clinical management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2014;28(6):1055-68
165. Gomez-Martin C, Lopez-Rios F, Aparicio J et al. A critical review of HER-2 positive gastric cancer evaluation and treatment: from trastuzumab and beyond. *Cancer Lett* 2014;351(1):30-40
166. Sanford M. Trastuzumab: a review of its use in HER2-positive advanced gastric cancer. *Drugs* 2013;73(14):1605-15
167. Peakman TC, Elliot P. The UK Biobank sample handling and storage validation studies. *Int J Epidemiol* 2008;37 Suppl 1:i2-6

168. Farkas DH, Kaul KL, Wiedbrauk DL, Kiechle FL. Specimen collection and storage for diagnostic molecular pathology investigation. *Arch Pathol Lab Med* 1996;120(6):591-6
169. Naber SP. Continuing role of a frozen-tissue bank in molecular pathology. *Diagn Mol Pathol*. 1996;5(4):253-9.
170. Sandusky GE, Teheny KH, Esterman M et al. Quality control of human tissues--experience from the Indiana University Cancer Center-Lilly Research Labs human tissue bank. *Cell Tissue Bank*. 2007;8(4):287-95
171. Guo J, Miao Y, Xiao B et al. Differential expression of microRNA species in human gastric cancer versus non-tumorous tissues. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009;24(4):652-7
172. Spruessel A, Steimann G, Jung M et al. Tissue ischemia time affects gene and protein expression patterns within minutes following surgical tumor excision. *Biotechniques*. 2004;36(6):1030-7.
173. Watson IR, Takahashi K, Futreal PA, Chin L. Emerging patterns of somatic mutations in cancer. *Nat Rev Genet*. 2013;14(10):703-18.
174. Lawrence MS, Stojanov P, Polak P et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature*. 2013 Jul 11;499(7457):214-8.
175. Zang ZJ, Cutcutache I, Poon SL et al. Exome sequencing of gastric adenocarcinoma identifies recurrent somatic mutations in cell adhesion and chromatin remodeling genes. *Nature Genet*. 2012;44:570-574.
176. Wang K, Kan J, Yuen ST, et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer. *Nature Genet*. 2011;43:1219-1223.
177. Wong SS, Kim KM, Ting JC et al. Genomic landscape and genetic heterogeneity in gastric adenocarcinoma revealed by whole-genome sequencing. *Nat Commun*. 2014;5:5477.
178. Wang K, Yuen ST, Xu J et al. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer. *Nat Genet*. 2014;46(6):573-82.
179. Seo SH, Hur H, An CW et al. Operative risk factors in gastric cancer surgery for elderly patients. *J Gastric Cancer*. 2011;11(2):116-21.

180. Lamb P, Sivashanmugam T, White M, Irving M, Wayman J, Raimes S. Gastric cancer surgery--a balance of risk and radicality. *Ann R Coll Surg Engl.* 2008;90(3):235-42.
181. Saka M, Morita S, Fukagawa T, Katai H. Present and future status of gastric cancer surgery. *Jpn J Clin Oncol.* 2011;41(3):307-13.
182. Bickenbach K, Strong VE. Comparisons of Gastric Cancer Treatments: East vs. West. *J Gastric Cancer.* 2012;12(2):55-62.
183. Kitadai Y. Angiogenesis and lymphangiogenesis of gastric cancer. *J Oncol.* 2010;468725.
184. Nobili S, Bruno L, Landini I et al. Genomic and genetic alterations influence the progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2011;17(3):290-9.
185. Takayama S, Wakasugi T, Funahashi H, Takeyama H. Strategies for gastric cancer in the modern era. *World J Gastrointest Oncol.* 2010;2(9):335-41.
186. Asoglu O, Karanlik H, Parlak M et al. Metastatic lymph node ratio is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Hepatogastroenterology.* 2009;56(91-92):908-13.
187. Feng J, Wu YF, Xu HM, Wang SB, Chen JQ. Prognostic significance of the metastatic lymph node ratio in T3 gastric cancer patients undergoing total gastrectomy. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(12):3289-92.
188. Alatengbaolide A, Lin D, Li Y et al. Lymph Node Ratio Is an Independent Prognostic Factor in Gastric Cancer After Curative Resection (R0) Regardless of the Examined Number of Lymph Nodes. *Am J Clin Oncol.* 2013;36(4):325-30.
189. Ojima T, Iwahashi M, Nakamori M et al. Influence of overweight on patients with gastric cancer after undergoing curative gastrectomy: an analysis of 689 consecutive cases managed by a single center. *Arch Surg.* 2009;144(4):351-8.
190. Tokunaga M, Hiki N, Fukunaga T, Ohyama S, Yamaguchi T, Nakajima T. Better 5-year survival rate following curative gastrectomy in overweight patients. *Ann Surg Oncol.* 2009;169(12):3245-51.
191. Kulig J, Sierzega M, Kolodziejczyk P et al. Implications of overweight in gastric cancer: A multicenter study in a Western patient population. *Eur J Surg Oncol.* 2010;36(10):969-76 (2010).

192. Nobuoka D, Gotohda N, Kato Y, Takahashi S, Konishi M, Kinoshita T. Influence of excess body weight on the surgical outcomes of total gastrectomy. *Surg Today*. 2011;41(7):928-34 (2011).
193. Meyer HJ, Wilke H. Treatment strategies in gastric cancer. *Dtsch Arztebl Int*. 2011;108(41):698-705.
194. Lee JH, Kim KM, Cheong JH, Noh SH. Current management and future strategies of gastric cancer. *Yonsei Med J*. 2012;53(2):248-57.
195. Ayyappan S, Prabhakar D, Sharma N. Epidermal growth factor receptor (EGFR)-targeted therapies in esophagogastric cancer. *Anticancer Res*. 2013;33(10):4139-55
196. Hudler P. Genetic aspects of gastric cancer instability. *ScientificWorldJournal* 2012; 761909. doi:10.1100/2012/761909.
197. Lawrence MS, Stojanov P, Mermel CH et al. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature* 2014;505(7484):495-501.
198. Liang H, Kim YH. Identifying molecular drivers of gastric cancer through next-generation sequencing. *Cancer Lett*. 2013;340(2):241-6.
199. Catenacci DV. Next-generation clinical trials: Novel strategies to address the challenge of tumor molecular heterogeneity. *Mol Oncol*. 2015;9(5):967-996.