



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Миљан М. Зиндовић

**КОМПАРАТИВНА АНАЛИЗА
ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКЕ ЕКСПРЕСИЈЕ
Stathmina1, Ecadherina, Ki67, p53 И *bcl2* У
ИНТЕСТИНАЛНОМ И ДИФУЗНОМ
КАРЦИНОМУ ЖЕЛУЦА**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2022.



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Miljan M. Zindović

**KOMPARATIVNA ANALIZA
IMUNOHISTOHEMIJSKE EKSPRESIJE
Stathmina1, Ecadherina, Ki67, p53 I *bcl2* U
INTESTINALNOM I DIFUZNOM
KARCINOMU ŽELUCA**

Doktorska disertacija

Kragujevac, 2022.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Miljan M. Zindović

**COMPARATIVE ANALYSIS OF
IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF
Stathmina1, Ecadherina, Ki67, p53 AND *bcl2*
IN INTESTINAL AND DIFFUSE TYPE OF
GASTRIC CARCINOMA**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2022.

Аутор
Име и презиме: Миљан Зиндовић
Датум и место рођења: 23.06.1979., Подгорица, Црна Гора
Садашње запослење: специјалиста опште хирургије, Центар за абдоминалну хирургију, Хируршка клиника, Клинички центар Црне Горе
Докторска дисертација
Наслов: Компаративна анализа имунохистохемијске експресије <i>Stathmin1</i> , <i>Ecadherina</i> , <i>Ki67</i> , <i>p53</i> и <i>bcl2</i> у интестиналном и дифузном карциному желуца
Број страница: 147
Број слика: 38 табела, 26 графикана, 3 kolaž fotografije (1x4; 2x6)
Број библиографских података: 362
Установа и место где је рад израђен: КБЦ Земун и Институт за патологију Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу
Научна област (УДК): Медицина, изборно подручје Онкологија
Ментор: Проф. др Слободан Милисављевић , редовни професор за ужу научну област Хирургија, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Коментор: Проф. др Весна Станковић , ванредни професор за ужу научну област Патолошка анатомија, Факултет медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 09.02.2021.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-683/28; 17.09.2021.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњеност услова кандидата:
1. Проф. др Драгче Радовановић , ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, председник
2. Проф. др Филип Вукмировић , ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Подгорици за ужу научну област Патологија, члан
3. Проф. др Наташа Здравковић , ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Интерна медицина, члан
Комисија за оцену и одбране докторске дисертације:
1. Проф. др Драгче Радовановић , редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, председник
2. Проф. др Филип Вукмировић , ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Подгорици за ужу научну област Патологија, члан
3. Проф. др Наташа Здравковић , ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Интерна медицина, члан
Датум одбране дисертације:

Autor
Ime i prezime: Miljan Zindović
Datum i mesto rođenja: 23.06.1979., Podgorica, Crna Gora
Sadašnje zaposlenje: specijalista opšte hirurgije, Centar za abdominalnu hirurgiju, Hirurška klinika, Klinički centar Crne Gore
Doktorska disertacija
Naslov: Komparativna analiza imunohistohemijske ekspresije <i>Stathmin1</i> , <i>Ecadherina</i> , <i>Ki67</i> , <i>p53</i> i <i>bcl2</i> u intestinalnom i difuznom karcinomu želuca
Broj stranica: 147
Broj slika: 38 tabela, 26 grafikona, 3 kolaž fotografije (1x4; 2x6)
Broj bibliografski podataka: 362
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: KBC Zemun i Insitut za patologiju Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu
Naučna oblast (UDK): Medicina, izborno područje Onkologija
Mentor: Prof. dr Slobodan Milisavljević , redovni profesor za užu naučnu oblast Hirurgija, Fakultet medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu
Komentor: Prof. dr Vesna Stanković , vanredni profesor za užu naučnu oblast Patološka anatomija, Fakultet medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu
Ocena i odbrana
Datum prijave teme: 09.02.2021.
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske disertacije: IV-03-683/28; 17.09.2021.
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenost uslova kandidata:
1. Prof. dr Dragče Radovanović , vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Hirurgija, predsednik
2. Prof. dr Filip Vukmirović , vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Podgorici za užu naučnu oblast Patologija, član
3. Prof. dr Nataša Zdravković , vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Podgorici za uže naučne oblasti Interna medicina, član
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacija:
1. Prof. dr Dragče Radovanović , redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Hirurgija, predsednik
2. Prof. dr Filip Vukmirović , vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Podgorici za užu naučnu oblast Patologija, član
3. Prof. dr Nataša Zdravković , vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Podgorici za uže naučne oblasti Interna medicina, član
Datum odbrane disertacije

Author
Name and surname: Miljan Zindović
Date and place of birth: 23rd June, 1979., Podgorica, Montenegro
Current employment: General surgeon, Center for abdominal surgery, Surgery clinic, Clinical Center of Montenegro
Doctoral Dissertation
Title: Comparative analysis of immunohistochemical expression of <i>Stathmin1</i> , <i>Ecadherina</i> , <i>Ki67</i> , <i>p53</i> and <i>bcl2</i> in intestinal and diffuse type of gastric carcinoma
No. of pages: 147
No. of images: 3
No. of bibliographic data: 362
Institution and place of work: Clinical and Hospital Center Zemun and Department of Pathology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Scientific area (UDK): Medicine, filed of interest Oncology
Mentor: Prof. dr Slobodan Milisavljević , Full Professor at the department of Surgery, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Co-mentor: Prof. dr Vesna Stanković , Associate Professor at the department of Pathology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Grade and Dissertation Defense
Topic Application Date: 9th February, 2021.
Decision number and date of acceptance of the doctoral: IV-03-683/28; 17th September, 2021.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: <ol style="list-style-type: none"> 1. Prof. dr Dragče Radovanović, Associate Professor at the department of Surgery, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, President 2. Prof. dr Filip Vukmirović, Associate Professor at the department of Pathology, Medical Faculty, University of Podgorica, member 3. Prof. dr Nataša Zdravković, Associate Professor at the department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, member
Commission for evaluation and defense of doctoral: <ol style="list-style-type: none"> 1. Prof. dr Dragče Radovanović, Full Professor at the department of Surgery, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, President 2. Prof. dr Filip Vukmirović, Associate Professor at the department of Pathology, Medical Faculty, University of Podgorica, member 3. Prof. dr Nataša Zdravković, Associate Professor at the department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, member
Date of Dissertation Defense:

Сажетак

Циљ рада је корелативна анализа имунохистохемијске експресије Stathmin 1, Ki67, E-cadherin, Vcl-2 и p53 у интестиналном и дифузном карциному желуца са класичним прогностичким параметрима тумора.

Коришћен је биопсијски оперативни материјал Хируршке клинике КБЦ Земун. Прву испитивану групу (n=45) су чиниле оперативне биопсије са интестиналним аденокарциномом желуца, а другу (n=45) су чиниле оперативне биопсије дифузног аденокарцинома желуца. Контролну групу обје испитиване групе, представљају оперативне биопсије нетуморског ткива желуца, из околине тумора. Након рутинске обраде ткива и калупљења у парафин, на пресецима дебљине 4 μ m су примјењене класична HE и имунохистохемијска ABC метода са анти - Stathmin 1, Ki67, E-cadherin, p53 и Vcl-2 антителима.

У интестиналном аденокарциному ни један од испитиваних онкопротеина не зависи од пола и локализације тумора. Stathmin 1 је у значајној вези са експресијом p53 и инвазијом крвних судова. Експресија p53 је значајно повезана са старосном доби и хистолошким градусом, а експресија Ki67 је у значајној вези са експресијом Vcl-2, хистолошким градусом, инвазијом лимфних судова, pT статусом, метастазама у лимфним чворовима и стадијумом туморске болести. E-cadherin је у значајној инверзној корелацији са експресијом Vcl-2, инвазијом лимфних и крвних судова, метастазама у лимфним чворовима, удаљеним метастазама и стадијумом туморске болести. Vcl-2 је значајно повезан са макроскопским типом тумора, хистолошким градусом, инвазијом лимфних и крвних судова, метастазама у лимфним чворовима и стадијумом болести.

У дифузном аденокарциному је Stathmin 1 повезан високим коефицијентима корелације са експресијом Ki67, p53, E-cadherin, Vcl-2, хистолошким градусом, инвазијом лимфних и крвних судова, метастазама у лимфним чворовима, удаљеним метастазама, pT статусом и стадијумом болести. ROC анализа је показала да сензитивност за Stathmin 1, за дифузни аденокарцином износи 72.9%, а специфичност 67.6%, док је сензитивност за Ki67 66.7%, а специфичност 65.6%.

У дифузном аденокарциному је пораст индекса експресије Stathmin 1 праћен повећаним пролиферативним индексом, редукцијом ћелијске адхезије, редукцијом апоптозе и порастом метастатског потенцијала, због чега овај онкопротеин може бити атрактивна терапијска мета у циљаној терапији овог типа карцинома желуца.

Кључне ријечи: аденокарцином желуца, имунохистохемијска експресија Stathmin 1, Ki67, p53, E-cadherin, Vcl-2, предиктори прогресије тумора

Sažetak

Cilj rada je korelativna analiza imunohistohemijske ekspresije Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, Bcl-2 i p53 u intestinalnom i difuznom karcinomu želuca sa klasičnim prognostičkim parametrima tumora.

Korišćen je biopsijski operativni materijal Hirurške klinike KBC Zemun. Prvu ispitivanu grupu (n =45) su činile operativne biopsije sa intestinalnim adenokarcinomom želuca, a drugu (n =45) su činile operativne biopsije difuznog adenokarcinoma želuca. Kontrolnu grupu obje ispitivane grupe, predstavljaju operativne biopsije netumorskog tkiva želuca, iz okoline tumora. Nakon rutinske obrade tkiva i kalupljenja u parafin, na presjecima debljine 4 μ m su primjenjene klasična HE i imunohistohemijska ABC metoda sa anti – Stathmin 1, Ki67, E-cadherin, p53 i Bcl-2 antitijelima .

U intestinalnom adenokarcinomu ni jedan od ispitivanih onkoproteina ne zavisi od pola i lokalizacije tumora. Stathmin 1 je u značajnoj vezi sa ekspresijom p53 i invazijom krvnih sudova. Ekspresija p53 je značajno povezana sa starosnom dobi i histološkim gradusom, a ekspresija Ki67 je u značajnoj vezi sa ekspresijom Bcl-2, histološkim gradusom, invazijom limfnih sudova, pT statusom, metastazama u limfnim čvorovima i stadijumom tumorske bolesti. E-cadherin je u značajnoj inverznoj korelaciji sa ekspresijom Bcl-2, invazijom limfnih i krvnih sudova, metastazama u limfnim čvorovima, udaljenim metastazama i stadijumom tumorske bolesti. Bcl-2 je značajno povezan sa makroskopskim tipom tumora, histološkim gradusom, invazijom limfnih i krvnih sudova, metastazama u limfnim čvorovima i stadijumom bolesti.

U difuznom adenokarcinomu je Stathmin 1 povezan visokim koeficijentima korelacije sa ekspresijom Ki67, p53, E-cadherin, Bcl-2, histološkim gradusom, invazijom limfnih i krvnih sudova, metastazama u limfnim čvorovima, udaljenim metastazama, pT statusom i stadijumom bolesti. ROC analiza je pokazala da senzitivnost za Stathmin 1, za difuzni adenokarcinom iznosi 72.9%, a specifičnost 67.6%, dok je senzitivnost za Ki67 66.7%, a specifičnost 65.6%.

U difuznom adenokarcinomu je porast indeksa ekspresije Stathmina 1 praćen povećanim proliferativnim indeksom, redukcijom ćelijske adhezije, redukcijom apoptoze i porastom metastatskog potencijala, zbog čega ovaj onkoprotein može biti atraktivna terapijska meta u ciljanoj terapiji ovog tipa karcinoma želuca.

Ključne riječi: adenokarcinom želuca, imunohistohemijska ekspresija Stathmin 1, Ki67, p53, E-cadherin, Bcl-2, prediktori progresije tumora

Abstract

Comparative analysis of immunohistochemical expression of Stathmin 1, Ki67, E-cadherin, p53 and Bcl2 in intestinal and diffuse gastric cancer.

The aim of this study was to correlate the immunohistochemical expression of Stathmin 1, Ki67, E-cadherin, Bcl-2 and p53 in intestinal and diffuse gastric cancer with classical tumor prognostic parameters.

Biopsy operative material from the Surgical Clinic of KBC Zemun was used. The first examined group (n = 45) consisted of operative biopsies with intestinal gastric adenocarcinoma, and the second (n = 45) consisted of operative biopsies of diffuse gastric adenocarcinoma. The control group of both the first (n = 45) and second (n = 45) examined groups are operative biopsies of adjacent non-tumor gastric tissue. After routine tissue processing and paraffin molding, classical HE and immunohistochemical ABC methods with anti - Stathmin 1, Ki67, E-cadherin, p53 and Bcl-2 antibodies were applied on 4µm thick sections.

In intestinal adenocarcinoma, none of the examined oncoproteins depends on the sex and localization of the tumor. Stathmin 1 is significantly associated with p53 expression and vascular invasion. P53 expression is significantly associated with age and histological grade, and Ki67 expression is significantly associated with Bcl-2 expression, histological grade, lymph vessel invasion, pT status, lymph node metastases, and disease stage. E-cadherin is significantly inversely correlated with Bcl-2 expression, lymph and blood vessel invasion, lymph node metastases, distant metastases, and disease stage. Bcl-2 is significantly associated with macroscopic tumor type, histological grade, lymph and blood vessel invasion, lymph node metastases, and disease stage.

In diffuse adenocarcinoma, Stathmin 1 is associated with high correlation coefficients with the expression of Ki67, p53, E-cadherin, Bcl-2, histological grade, lymph and blood vessel invasion, lymph node metastases, distant metastases, pT status and stage. ROC analysis showed that the sensitivity for Stathmin 1, for diffuse adenocarcinoma is 72.9% and the specificity is 67.6%, while the sensitivity for Ki67 is 66.7% and the specificity is 65.6%.

In diffuse adenocarcinoma, the increase in Stathmin 1 expression index is accompanied by increased proliferative index, reduction of cell adhesion, reduction of apoptosis and increase of metastatic potential, due to which this oncoprotein can be an attractive therapeutic target in targeted therapy of this type of gastric cancer.

Key words: gastric adenocarcinoma, immunohistochemical expression of Stathmin 1, Ki67, p53, E-cadherin, Bcl-2, predictors of tumor progression

Захвалност приликом израде докторске дисертације дугујем:

Проф. др Слободану Милисављевићу, ментору и драгом колеги, којем се захваљујем на подршци, као и на пријатељским и стручним савјетима током израде ове тезе.

Својој драгој професорки, дугогодишњем великом пријатељу и учитељу, Проф. др Снежани Јанчић, на подршци, помоћи и пренешеном знању.

Комисији, на успјешној сарадњи, корисним савјетима и жељи да се заврши ова теза.

Мојим родитељима, брату и његовој породици за сав труд, жртву и безрезервну подршку, са пуно разумијевања и љубави у сваком тренутку.

Мојој вољеној Дуњици, најбољем пријатељу и љубави, на немјерљивој помоћи, стрпљењу и пажњи, уз непрекидну вјеру у мене и мој рад.

Садржај

1. УВОД.....	4
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	6
2.1. Ембриологија желуца.....	6
2.2. Анатомија желуца.....	6
2.2.1. Топографија желуца	8
2.3. Хистолошка организација желуца	9
2.3.1. Служница желуца.....	10
2.3.2. Подслужница желуца (tunica submucosa)	12
2.3.3. Мишићни слој (tunica muscularis).....	12
2.3.4. Серозни омотач (tunica serosa).....	12
2.3.5. Регенерација ћелија служнице желуца	13
2.3.6. Епителни муцини служнице желуца.....	13
2.4. Физиолошке функције желуца	14
2.5. Карцином желуца	16
2.5.1. Епидемиолошки и демографски подаци.....	16
2.5.2. Етиологија.....	17
2.5.2.1. Навике и начин живота.....	17
2.5.2.2. Ендогени фактори ризика.....	18
2.5.2.3. <i>Helicobacter pylori</i>	19
2.5.3. Желудачна карциногенеза.....	21
2.5.4. Рани карцином желуца	24
2.5.4.1. Учесталост и дистрибуција	24
2.5.4.2. Ендоскопска (макроскопска) класификација раног карцинома желуца	25
2.5.4.3. Хистопатолошка класификација раног карцинома.....	26
2.5.4.4. Хистогенетска класификација раног карцинома.....	26
2.5.4.5. Лијечење раног карцинома.....	27
2.5.5. Инвазивни карцином желуца.....	27
2.5.5.1. Топографска класификација карцинома желуца.....	27
2.5.5.2. Макроскопска класификација карцинома желуца	28
2.5.5.3. Микроскопска класификација карцинома желуца.....	28
2.5.5.4. Интестинални карцином желуца	30
2.5.5.5. Дифузни карцином желуца	31
2.5.5.6. TNM класификација карцинома желуца.....	32

2.5.6. Дијагноза карцинома желуца.....	34
2.5.6.1. Клиничка слика	34
2.5.6.2. Клиничка дијагностика.....	35
2.5.6.3. Хистопатолошка дијагностика.....	36
2.5.7. Лијечење, прогноза и превенција карцинома желуца	40
2.5.7.1. Лијечење.....	40
2.5.7.2. Прогноза карцинома желуца	41
2.5.7.3. Превенција карцинома желуца	42
2.6. Биомаркери за карцином желуца	43
2.6.1. Stathmin 1	44
2.6.2. Пролиферативни Ki67 антиген.....	45
2.6.3. Адхезиони молекули и E-cadherin (Увомодулин).....	46
2.6.4. Тумор супресор TP53 ген.....	47
2.6.5. Vcl-2 онкопротеин.....	48
3. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА	50
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	51
4.1. Ткивни узорци.....	51
4.2. Методе	51
4.2.1. Имунохистохемијски метод.....	52
4.2.1.1. Извођење имуноензимске реакције.....	52
4.2.1.2. Евалуација имунохистохемијске експресије	52
4.2.1.3. Контрола квалитета и специфичности имунохистохемијског бојења	53
4.2.2. Статистичка обрада података	53
5. РЕЗУЛТАТИ	55
5.1. Дескриптивна макроскопска анализа	55
5.2. Дескриптивна микрокорфолошка анализа.....	56
5.2.1. Интестинали карцином желуца	56
5.2.2. Дифузни карцином желуца	57
5.3. Статистичка анализа.....	58
5.3.1. Демографске карактеристике интестиналног и дифузног карцинома желуца	58
5.3.2. Клиничке и хистопатолошке карактеристике интестиналног и дифузног карцинома желуца.....	61
5.3.3. Имунохистохемијско испитивање експресије Ki67, Stathmina 1, p53, E-cadherina и Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца и у сусједном не-туморском ткиву.....	76

5.3.4. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на демографске и клиничко-патолошке параметре	84
5.3.5. Корелациона анализа клиничко-патолошких варијабли и Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina, Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца	98
5.3.6. Гранична вриједност (cut off) Stathmina 1 и Ki67 у дифузном карциному желуца	105
6. ДИСКУСИЈА	107
6.1. Клиничко-патолошке карактеристике карцинома желуца	107
6.2. Повезаност експресије испитиваних маркера са клиничко-патолошким параметрима карцинома желуца	109
6.2.1. Експресија Stathmina1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 у испитиваним групама..	109
6.2.2. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 и демографске карактеристике испитаника	112
6.2.3. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 у односу на pT стадијум тумора.....	114
6.2.4. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 и макроскопски тип и локализација тумора у желуцу	116
6.2.5. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 и хистолошки градус тумора.....	117
6.2.6. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 и инвазија лимфних и крвних судова	119
6.2.7. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 и метастазе у лимфним чворовима и удаљене метастазе	120
6.3. Узајамни односи испитиваних варијабли	122
6.3.1. Међусобна повезаност свих клиничко-патолошких варијабли по типу карцинома желуца	122
6.3.2. Међусобна повезаност Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl2 по типу карцинома желуца.....	123
6.3.3. Повезаност експресије Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53, Vcl-2 са клиничко-патолошким варијаблама по типу карцинома желуца	124
6.4. Гранична вриједност (cut off) Stathmina 1 и Ki67 у дифузном карциному желуца...	126
7. ЗАКЉУЧАК.....	127
8. ОПШТИ ЗАКЉУЧАК.....	129
9. ЛИТЕРАТУРА.....	130

1. УВОД

Традиционално четврти по учесталости малигни тумор, а други, одмах иза карцинома плућа узрок смрти од карцинома, са стопом петогодишњег преживљавања мањом од 30%, карцином желуца је значајан здравствени проблем широм свијета (1, 2). Често клинички прикривен, ураста у зид желуца и перитонеума и даје лимфогене и хематогене метастазе, које су некада његова прва клиничка манифестација (2, 3). Уколико се овоме додају некомплетна сазнања о преканцерозним лезијама и насљеђу, непотпуно дефинисана патогенеза, и неусклађене класификације (2), разумљиво је непрестано интересовање истраживача за ову болест.

Иако је у патогенези желудачних карцинома опште прихваћен модел вишестепене карциногенезе, од *H.pylori* индукованог хроничног гастритиса преко мултифокалне атрофије, интестиналне метаплазије и дисплазије до карцинома, назване “Correa секвенца” (4, 5), ипак између интестиналног и дифузног типа карцинома постоје бројне различитости, како у хистолошком обрасцу раста, тако и у биолошком понашању. Прије свега, за дифузни тип још увијек није сасвим прецизирана преканцерозна лезија, затим он није дефинисан на основу хистогенезе (попут интестиналног типа), већ на основу начина раста. Састоји се од слабо кохезивних ћелија које дифузно инфилтришу желудачни зид и формира мало или нимало жљезданих структура. Јавља се претежно код млађих пацијената, док је интестинални тип чешћи код старијих узрасних група (6). Такође, за разлику од интестиналних варијанти које показују тенденцију да метастазирају у јетру, дифузни тип се директно шири у перитонеум и сусједне органе.

Прогноза дифузног карцинома је предмет многих дебата у литератури. Саопштено је да дифузни карциноми обухватају лезије са различитом прогнозом: од нискостепених дезмопластичних типова без или са ријетким ангио-лимфо-неуралним инвазијама, до високостепених подтипова са анапластичним ћелијама (7), али други аутори истичу његову значајно лошију прогнозу у односу на интестинални тип посебно код млађих, одраслих (2).

Поред ових сазнања намеће се и кључно питање: како хронична *H.pylori* инфекција изазива тако различите клиничке исходе? Током „Correa секвенце“ се дешавају поремећаји ћелијске пролиферације, диференцијације, адхезије и трансдукције сигнала са акумулацијом генетских алтерација, што у коначном исходу води у канцерску трансформацију, а да би дошло до малигне трансформације потребна је активација и сарадња више онкогена (4, 5). Један од онкопротеина који је спорадично испитиван у желудачној карциногенези је Stathmin 1, микротубуларни регулаторни протеин са важном улогом у монтажи и демонтажи диобног вретена (8). Експресија Stathmina 1 у канцерским ћелијама је повезана са њиховом пролиферацијом и метастазирањем. Високо је експримиран у широком спектру хуманих карцинома, па представља атрактивну мету за антиканцерску терапију (9). Јеоп и сарадници су недавно саопштили позитивну корелацију експресије Stathmina 1 са метастазама, а негативну са дужином преживљавања код дифузног типа желудачног карцинома (10).

Познато је да ћелијска адхезија има важну улогу у регулацији раста, диференцијацији и миграцији ћелија. Кључну улогу у ћелијској адхезији и у одржавању нормалних структура ткива имају кадхерини (11). Ћелијски адхезиони молекули E-cadherin је идентификован као супресор туморске инвазије и метастазирања. Губитак E-cadherin адхезионих молекула доводи до поремећаја цитоскелета, повећава се миграторна способност ћелија и омогућава њихово одвајање од тумора, што сугерише да промјене у експресији E-cadherina могу бити значајан показатељ туморске прогресије (11, 12). У карциному желуца је показано да је

редукција експресије E-cadherin сигнификантно удружена са туморском инфилтрацијом, метастазама у лимфним нодусима и лошом прогнозом (13).

Пролиферација ћелија је пропорционална туморском расту и прогресији, а традиционално коришћен маркер пролиферације је пролиферативни нуклеарни антиген - Ki67. Он обиљежава не само ћелије у диоби већ и све оне у синтетичкој фази циклуса (у G₁, S, G₂ и M фази) (14).

Ријетка су саопштења о томе да p53, осим улоге транскрипционог фактора и „чуvara генома“ (зауставља репликације оштећене ДНК), своју тумор супресорну активност испољава и кроз способност да модулише ћелијску миграцију. Губитак функције p53 повећава мотилитет ћелија што доприноси инвазивности тумора (15). Апоптоза је важан ниво контроле ткивне хомеостазе којом се елиминишу непожељне ћелије, а узрокована је дјеловањем p53. Ова функција долази до изражаја послије излагања ћелија агенсима који оштећују ДНК. Ген Bcl-2 са анти-апоптотичном функцијом је под нисходном регулацијом гена Wild 53. Превласт пролиферације над апоптозом обезбјеђује раст и прогресију тумора. Постоји више доказа који подржавају хипотезу да изостанак апоптозе може бити важан фактор у еволуцији карцинома и лошег одговора на хемо- и радиотерапију (16, 17).

Због свега наведеног, у овом истраживању смо спровели компаративно испитивање корелације експресије Stathmina 1 у односу на адхезионе молекуле, индекс пролиферације, апоптотички индекс, и експресију тумор супресорног гена p53, у интестиналном и дифузном типу желудачног карцинома са циљем да се испитају сличности и разлике патогенетских механизма и барем дјелимично расвијетле неке дилеме везане за, фенотипску различитост ова два желудачна карцинома.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. Ембриологија желуца

Дигестивни апарат води поријекло из ектодерма и мезодерма, при чему се из ектодерма развија епител дигестивне цијеви, дигестивне жлијезде и паренхим јетре и панкреаса. Остали дијелови дигестивног тракта (мишићно и везивно ткиво), перитонеум и мезентеријум настају из мезодерма (18).

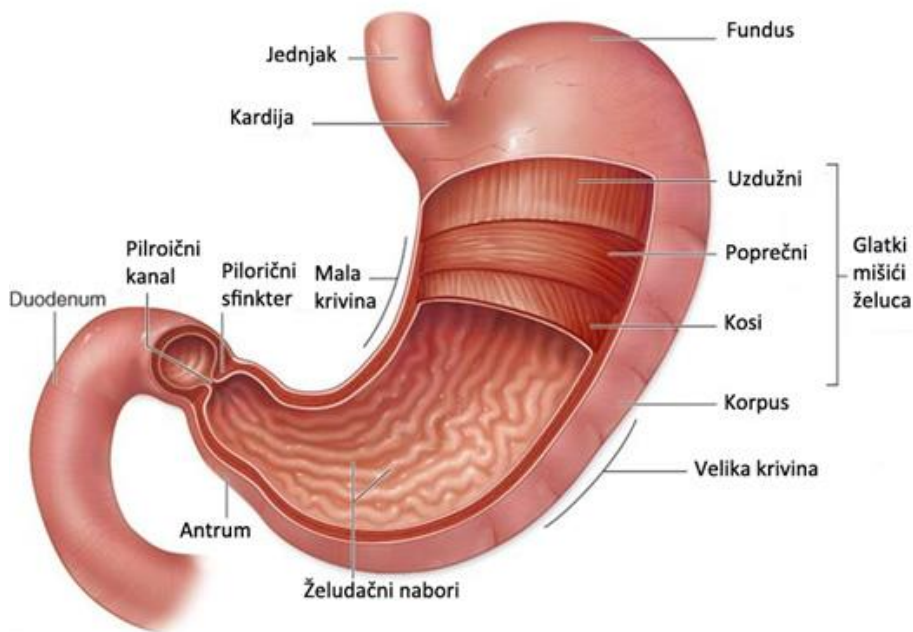
Ембрионални развој желуца почиње у петој недјељи вретенастим проширењем предњег примарног цијева, које има предњи, средњи и задњи сегмент. Желудац настаје из каудалног дијела, од којег настају и езофагус, дио дуоденума, јетра, жучни путеви и панкреас. Вретенасто проширење предњег примарног цијева је причвршћено за дорзални и вентрални зид дорзалним и вентралним мезогастријумом. Дорзални дио проширења расте знатно брже од вентралног, тако да се на задњем дијелу ствара велика кривина, док на предњем настаје мала кривина. Горњи дио се проширује у фундус и истовремено желудац се спљошти, тако да стране гледају латерално лијево и десно, при чему се лијеви *n. vagus* пружа лијевом, а десни *n. vagus* иде десном страном. Затим се желудац ротира за 90⁰ тако да се лијева страна окреће напријед, а десна назад, тако да лијеви *n. vagus* инервише предњи зид, а десни инервише задњи зид (19, 20).

Пошто је желудац причвршћен за зид абдомена дорзалним и вентралним мезогастријумом, то се и они помјерају при ротацији. Дорзални мезогастријум, помјерајући се улијево ствара бурсу оменталис (3, 4). Уз ротацију око уздужне осовине, желудац се ротира и око попречне осовине, при чему се каудални-пилорични дио помјера удесно и нагоре, а кранијални-кардијални дио улијево и надоље. На овај начин желудац заузима дефинитивни положај, тако да је велика кривина окренута улијево и надоље, а мала удесно и нагоре (18 - 21).

Најчешћа аномалија током ембрионалног развоја желуца је хипертрофија пилоруса. Она настаје прије свега због хипертрофије циркуларног и у мањој мјери и лонгитудиналног мишићног слоја (20).

2.2. Анатомија желуца

Желудац је дио дигестивног канала који се пружа од доњег краја једњака до почетног дијела дуоденума и лежи у надмезоколичном спрату трбушне дупље. Највећим дијелом се налази у лијевом хипохондријуму, у епигастријуму и дијелом у мезогастријуму, у својој ложи испод дијафрагме и лијевог режња јетре. На положај и облик желуца битно утичу хабитус, конституција и ухрањеност. Осредње испуњен желудац, у стојећем ставу, је дужине око 25цм, ширине 10-20цм и дебљине 8-9цм. На желуцу се јасно издвајају нисходни и хоризонтални дио. Нисходни дио или тијело желуца (*corpus ventriculi*) налази се улијево од кичменог стуба и силази укосом надоље и напријед. Хоризонтални или пилорични дио (*pars pylorica*) се пење испред кичменог стуба удесно и назад. На желуцу се разликују два зида (вентрални и дорзални), двије кривине (мала и велика) и два отвора (кардија и пилорус) (22).



Слика 1. Анатомска грађа желуца
(*refluxcentar.com*)

Зидови желуца су косо постављени, тако да предњи зид иде напријед и навише, а задњи назад и надоље. Ивице желуца, десна и лијева, су лучне и називају се кривинама. Десна ивица је мала кривина желуца (*curvatura ventriculi minor*), управљена је удесно и назад ка кичменом стубу. Велика кривина (*curvatura ventriculi major*) управљена је улијево и напријед, ка предњем трбушном зиду. Идући од почетног дијела желуца (*pars cardiaca*) она гради лук, који је конвексан навише и налијеже уз дијафрагму, а затим силази поред слезине до њеног предњег пола, гдје савија удесно и иде изнад попречног колона. Почетни дио велике кривине који одозго затвара тијело желуца и гради његов свод или дно (*fundus ventriculi*), одвојен је од завршног дијела једњака дубоким усјеком (*incisura cardiaca*) (23).

Кардија (*cardia*) се налази одмах испод езофагогастричног споја, док је фундус (*fundus ventriculi*) локализован испод лијеве дијафрагме. Двије доње трећине желуца представљају тијело желуца (*corpus ventriculi*). Антрум и пилорус заузимају дисталну трећину желуца (22).

Артерије желуца потичу од три артеријска стабла која настају из трбушне аорте: *truncus coeliacus*, *a. mesenterica superior* и *a. mesenterica inferior*. *Truncus coeliacus*, по одвајању од трбушне аорте даје три велике артерије: *a. hepatis communis*, *a. gastrica sinistra* и *a. lienalis*. Заједничка хепатична артерија даје гастродуоденалну артерију, прелази у хепатичну артерију (*a. hepatica*), која даје десну гастричну артерију (*a. gastrica dextra*). Гастродуоденална артерија се дијели у десну гастроепиплоичну артерију која одлази у велику кривину и анастомозира се са граном лијеналне артерије, лијевом гастроепиплоичном артеријом. Десна гастрична артерија иде уз малу кривину и спаја се са лијевом гастричном артеријом. Ова богата артеријска мрежа штити желудачну слузокожу од могућих исхемијских инфаркта. Лијева гастрична артерија се приликом гастректомије, у случају малигног тумора желуца, рутински подвезује у близини њеног исходишта, изнад горње ивице панкреаса (23).

Вене желуца су паралелне истоименим артеријским крвним судовима, а дренирају се у портну вену (*v. portae hepatis*). Њихова топографија је релативно константна па због тога, код поштедне хемигастректомије, венски судови могу да послуже као оријентир за проксималну линију ресекције. Тако се, на малој кривини желуца, трећа грана *v. coronariae* ниже од ушћа једњака у желудац, узима као једна од тачака за ресекцију. На великој кривини желуца, оријентир је мјесто гдје се лијева гастроепиплоична вена највише приближава желуцу. Ресекција се најчешће ради између ове двије тачке (24).

Лимфна дренажа желуца почиње у његовој слузници, одакле се лимфа дренира у субмукозни лимфатични плексус. Преко лимфних путева који пролазе кроз мишићни слој лимфа се даље дренира у субсерозни лимфатични плексус, а затим у екстрагастричне лимфатичне нодусе. Све ово указује да су могућности ширења малигног процеса веома велике. Будући да је субмукозни плексус у директној вези са субмукозним плексусом једњака, то је могуће лимфогено ширење метастаза и на једњак. Субсерозни плексус се директно наставља на субсерозни плексус дуоденума, што омогућава рано ширење карцинома са желуца и на дуоденум (3, 21).

Екстрагастрични лимфни путеви (укључујући и нодусе) прате главне артерије желуца. Први пут лимфне дренаже се одвија дуж десне гастроепиплоичне артерије према пилорусним лимфонодусима. Други пут се одвија преко лијеве гастроепиплоичне артерије и *vasa brevia* у лимфне нодусе слезине и репа панкреаса, а одатле у целијачне нодусе и нодусе око кардије. Трећи пут је дренажа дуж лијеве гастричне артерије према целијачним нодусима и паракардијалним и субкардијалним лимфним нодусима. Четврти пут чине лимфни судови и нодуси дуж десне гастричне артерије, а одатле даље у лимфне нодусе целијачног плексуса, гастродуоденалне нодусе и нодусе хепатодуоденалног лигамента и порте хепатис. Централни колектор лимфне дренаже желуца су целијачни лимфни нодуси па пробијањем ове баријере настају удаљене парааорталне метастазе преко *ductus thoracicus-a.* (24).

Инервација желуца се одвија, са једне стране, преко лијевог и десног *n. vagusa*, а са друге преко симпатичних влакана целијачног плексуса. Предњи (лијеви) вагус даје предњу гастричну и хепатичну грану. Задњи (десни) вагус је дебљи од предњег и налази се иза једњака. Десни вагус се у висини кардије дијели у целијачну и задњу гастричну грану.

У мишићном слоју и субмукози се гране вагуса спајају са симпатичким постганглијским влакнима целијачних ганглија формирајући *Auerbachov* миентерични (Plexus myentericus) и субмукозни *Meissnerov* сплет (Plexus submucosus). Оба сплета садрже ганглијске ћелије, симпатичка и парасимпатичка нервна влакна. Уопште узевши, улога вагуса је да повећава желудачни моталитет и секрецију желудачних жлијезда, док их симпатикус смањује (23).

2.2.1. Топографија желуца

Предњи зид желуца лежи у косој равни која се од X грудног пршљена спушта ка предњем трбушном зиду. Тако предњи желудачни зид долази у додир са дијафрагмом, јетром и предњим трбушним зидом. Дио који је у контакту са предњим трбушним зидом је доступан палпацији. Остали дио предњег зида се подвлачи испод јетре, дијафрагме и дијела лијевог зида грудног коша (23). Овај дио желуца се назива *Traube-ov* полумјесечаста простор и при перкусији даје тимпаничан звук (24).

Задњи зид желуца налијеже на предњу страну тијела и репа панкреаса и у контакту је са великим крвним судовима (*arteria i vena lienalis*). Дио задњег зида који се налази изнад панкреаса долази у додир са горњим полом лијевог бубрега, лијевом надбубрежном жлијездом, са перитонеалном петелком попречног колона а лијево латерално долази у контакт са хилусом слезине. Између задњег зида желуца и ових органа, који заједно чине лежиште желуца (*lectulus ventriculi*), увлачи се шпаг перитонеалне дупље или опорњачка кеса (*bursa omentalis*) (25).

Желудац је са сусједним органима везан дупликаатурама перитонеума. Са мале кривине на доњу површину јетре иде хепатогастрична веза (*ligamentum hepatogastricum*) малог оментума (*omentum minor*). Велику кривину повезује са сводом дијафрагме *ligamentum gastrophrenicum*. Гастролијенална веза (*ligamentum gastrolienale*) повезује велику кривину желуца са хилусом слезине. Са велике кривине желуца на трансверзални колон иде гастроколична веза (*ligamentum gastrocolicum*), која је дио предњег зида велике *burse omentalis*. Ове везе фиксирају желудац у његовој ложи и омогућују несметано одвијање његове функције (21 - 24).

Улазни отвор желуца (*ostium cardiacum*) се пројектује на зид грудног коша у висини VII међуребарне хрскавице, 3 цм од ивице стернума и лежи на боку X-XI торакалног пршљена. Покривен је лијевим режњем јетре, а својом задњом страном у контакту је са медијалним крусом дијафрагме (*crus mediale partis lumbalis diaphragmatis*). Улазни отвор са абдоминалним дијелом једњака и фундусом желуца образује угао (*incisura cardiaca*). Дио желуца непосредно дистално од сфинктера кардије се назива кардијални дио желуца (23).

Излазни отвор желуца (пилорус) се налази у висини I лумбалног пршљена, око 5 цм десно од медијалне линије. Његова пројекција на предњем трбушном зиду је у предјелу предњег краја десног деветог ребра. Излазни отвор је покривен квадратним режњем јетре, а својом задњом страном налијеже на панкреас и завршну рачву *a. hepaticae communis*. Граница између желуца и дуоденума је означена усправним уским жлијезбом у коме се налази Мауо-ва вена (*v. prepylorica*). У највећем броју случајева ова граница се може одредити и палпаторно, јер се јасно запажа чврста мускулатура пилоричног сфинктера (3, 22).

2.3. Хистолошка организација желуца

Желудац је анатомски подијељен на четири региона: *pars cardiaca*, *fundus ventriculi*, *corpus ventriculi* и *pars pylorica*. Већ је речено да *pars pylorica* посједује пилорусни антрум и пилорус. Будући да корпус и фундус желуца имају идентичну хистолошку грађу, у желуцу се углавном хистолошки описују три региона (21, 26).

Корпусни сегмент желудачне слузокоже (фундусна мукоза) обухвата фундус и корпус у цјелини и има специфичну дигестивну функцију. Антрални сегмент (пилорусна мукоза) је регулациони сегмент у коме су сконцентрисане многобројне функције за регулацију желудачне активности. Слузнице корпусног и антралног сегмента се разликују по хистолошкој грађи, по функционалној активности, па чак и по финој макроморфологији, што се може уочити и ендоскопским прегледом.

Посматрано од унутрашње површине пут споља, зид желуца је сачињен од четири слоја (21, 26):

1. Слузница (*tunica mucosa*)
2. Подслузница (*tunica submucosa*)

3. Мишићни слој (*tunica muscularis*)

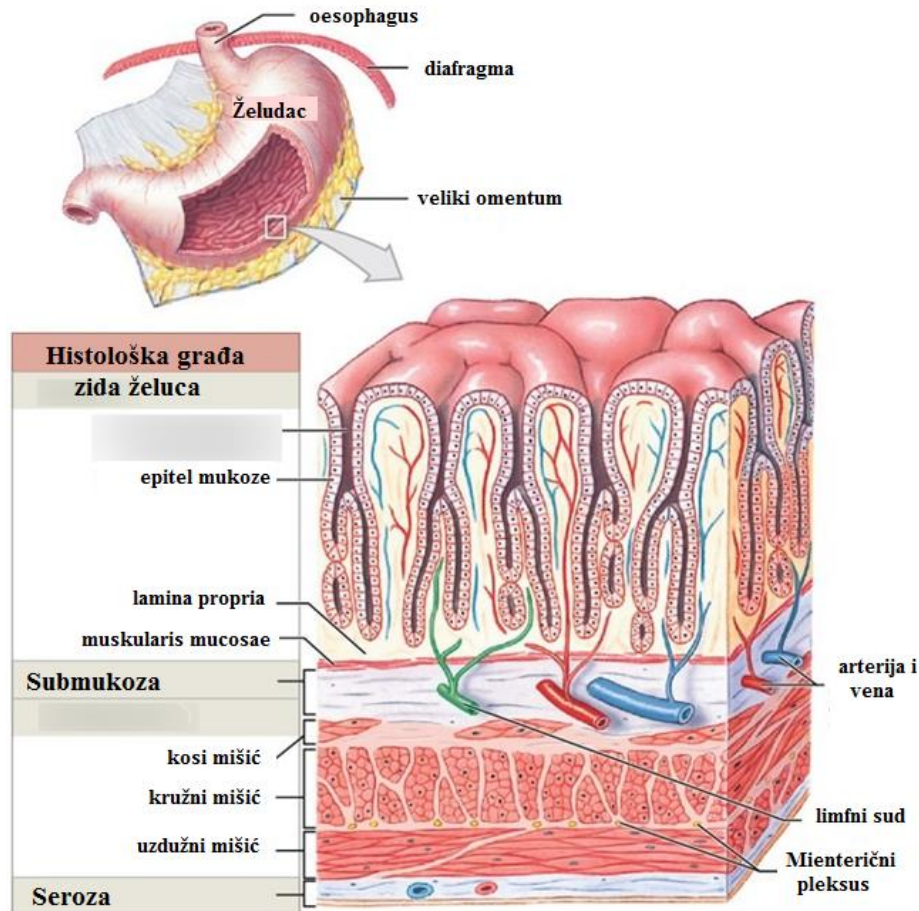
4. Серозни слој (*tunica serosa*)

2.3.1. Слuzница желуца

Слuzница желуца је грађена од епитела (*lamina epithelialis*), крзна (*lamina propria*) са жлијездама и танког мишићног слоја (*lamina muscularis mucosae*). Дебљине је до 1500 μm и према мишићном слоју лабаво причвршћена, тако да се у односу на мускулатуру може слободно покретати. Због тога у празном желуцу слuzница са подслuzницом образује уздужне наборе (*rugae*), који су посебно изражени у фундусу, а када је желудац потпуно испуњен, ови набори нестају. Поред набора слuzница формира и дискретна брадавичаста испупчења тзв. желудачна поља (*areae gastricae*), пречника 1-5мм. Њихова површина је избраздана љевкастим удубљењима названим “желудачне јамице” (*foveolae gastricae*). На дну фовеола се отвара 3-5 желудачних жлијезда (26).

На слuzници кардије, тј. на мјесту преласка езофагуса у кардију, уочава се назупчена линија (*ora serrata*) у којој долази до промјене грађе слuzнице. Ту сквамозноћелијски епител једњака прелази у једноредни цилиндрични епител који покрива слободну површину слuzнице и зидове гастричних фовеола све до пилоруса, односно до почетка дуоденума. Цилиндричне ћелије секретују муцине и имају протективну улогу јер штите слuzницу од протеолитичког деловања желудачног сока. Ултраструктурно се у апикалном дијелу цитоплазме виђају муцинске грануле. Цитохемијски је показано да је муцин у гранулама PAS +, односно неутралан, исто као и танак слој слuzи који покрива површину епитела. Епител желудачне слuzнице има велику регенеративну моћ и експериментално је показано да се *lamina epithelialis*, у физиолошким условима, у цјелини, обнавља свака 3 до 4 дана (27). Крзно желудачне слuzокоже се налази испод епитела и око жлијезда, а чини га везивно ткиво богато ћелијским елементима (лимфоцити, плазма ћелије, фибробласти, мастоцити, еозинофили) и ретикулинским, а у мањој мјери и еластичним влакнима. Ћелијски елементи су бројнији у антруму. Дубоко у крзну, нарочито у пилорусној регији, могу се видјети и лимфни фоликули. Крзно је богато васкуларизовано сплетом капилара, садржи мрежу лимфних судова и нервних влакана (26).

Желудачне жлијезде се протежу од дна крипти до *lamina muscularis mucosae*. На основу хистолошке грађе су подијелене на кардијалне, фундусне и пилоричне. Кардијалне жлијезде су смјештене у слuzници кардије, њихове покровне ћелије су претежно муциногене а између њих се налазе ријетке ендокрине ћелије. Њихова функција је искључиво секреторно-протективна.



© 2018 Pearson Education, Inc.

Слика 2. Хистолошка организација желуца
(o.quizlet.com)

Слузница корпуса (фундуса) је дебљине од 400-1500 μm од којих $\frac{1}{4}$ заузима фовеоларни слој са типичним фовеолама покривеним мукоидним цилиндричним епителом, а остале $\frac{3}{4}$ чине glandуларни слој. Жљездани систем корпуса (фундуса) чине карактеристичне жлезде - *glandulae gastricae propriae*. У једној фовеоли се отвара по неколико ових жлијезда. Жљездани тубули су углавном прави, дугачки око 500 μm , широки око 50 μm и слијепе се завршавају у близини *laminae muscularis mucosae*. Жљездани тубули имају три типична сегмента: врат, средњи део и дно. Вратна зона представља зону активног ћелијског раста. Жљездани епител корпусних жлијезда садржи пет типова епителних ћелија: мукусне, зимогене, паријеталне, недиферентоване и ендокрине. Паријеталне ћелије су већином присутне у горњем и средњем дијелу жлијезде, пирамидалног су облика и луче хлороводоничну киселину и унутрашњи фактор (Castl-ov intrinsic factor). Оне немају способност дијељења и обнављају се диференцијацијом из незрелих ћелија вратног дијела жлијезда (26, 27).

Зимогене или главне ћелије преовлађују на дну жлијезда, призматичног су или кубичног облика и у апикалном дијелу цитоплазме садрже секреторне грануле у којима су депоновани прекурсорни пепсина.

Мукусне ћелије вратног дијела жлијезда су малобројне и налазе се разбацане између паријеталних ћелија. У апикалној цитоплазми садрже грануле са PAS+ неутралним муцинима.

Од ендокриних ћелија у корпусној слузокожи су присутне ентерохромафине (ЕС) ћелије које секретују серотонин, enterochromaffin-like (ECL) ћелије које ослобађају хистамин, и глукагон-секретујуће ћелије. По правилу нема G-ћелија које секретују гастрин. У нормалној корпусној слузокожи такође нема ни Panetov-их и пехарастих ћелија (21).

Антрални сегмент (пилорусна слузница) карактеришу мукоидне антралне жлијезде које су претежно сачињене из мукоидних ћелија међу којима се могу наћи разбацане појединачне паријеталне ћелије. Слузокожа је у овом сегменту нешто тања, дебљине од 200 до 1100 μm , при чему читаву половину слузнице заузимају фовеоле, које су значајно дубље него у корпусу. У овом сегменту су нарочито бројне гастрин-секретујуће G-ћелије, ЕС-ћелије и соматостатин продукујуће D-ћелије (21).

Прелаз корпусне слузнице у антралну је нагао. Није аналоган анатомским ознакама и приказује се као линија која полази са мале кривине на око 2/5 њене дужине спуштајући се на велику кривину у близини пилоруса. Није неуобичајено да се антрална слузница шири уз малу кривину скоро до кардије. Студије базиране на мултиплим биопсијама слузнице желуца показују да се са старошћу слузница корпусног типа у желуцу смањује у корист антралне слузнице, посебно дуж мале кривине (26, 27).

2.3.2. Подслузница желуца (*tunica submucosa*)

Субмукозу чини растресито везивно ткиво са масним ћелијама, крвним и лимфним судовима и ганглијским ћелијама субмукозног нервног плексуса. Постоји потпуни континуитет субмукозе једњака и желуца, али се на желудачно-дуоденалној граници субмукоза прекида због присуства Brunner-ових жлијезда и пилорусног сфинктера. У субмукози пилоруса се могу наћи и лимфоидни фоликули који се никада не налазе у субмукози фундуса или корпуса желуца (21, 27).

2.3.3. Мишићни слој (*tunica muscularis*)

Мишићни слој желуца се разликује од осталих дијелова дигестивног тракта јер има три слоја: унутрашњи-коси слој (*stratum obliquum*), средњи-кружни (*stratum circulare*) и спољни-уздужни (*stratum longitudinale*), који се наставља на уздужни слој мишићног зида једњака. Овај слој се протеже од једњака до дуоденума. Циркуларни слој је у предјелу пилоруса задебљан и формира *m. sphincter pylori*. Између циркуларног и лонгитудиналног слоја се налази растресито везивно ткиво. У њему су смјештене ганглије и сплет нервних влакана, односно *plexus myentericus Auerbachi* (21, 27)

2.3.4. Серозни омотач (*tunica serosa*)

Серозни слој је дио перитонеума који обавија желудац са спољне стране. Састављен је од растреситог везивног ткива и једнослојног плочастог епитела (мезотела), који јој даје глаткоћу и сјај. У везивном ткиву се налазе крвни и лимфни судови и нервна влакна. На малој кривини желуца серозни слој прелази у мали оментум, а на великој кривини у велики оментум (21, 26, 27).

2.3.5. Регенерација ћелија слузнице желуца

У врату желудачних жлијезда су смјештене малобројне, мултипотентне, недиферентоване матичне ћелије из којих се могу диферентовати све епителне ћелије. Равнотежа између десквамованих ћелија покровног епитела и регенеративних ћелија утиче на дебљину нормалне желудачне слузнице. То значи да је нормално очекивати настанак атрофијског гастритиса уколико је десквамација повећана или пак регенерација смањена (28).

Из вратног дијела жлијезда недиферентоване матичне ћелије мигрирају нависе и притом се диференцирају у цилиндричне мукусне ћелије које облажу фовеоле и површину. Вријеме миграције ових ћелија код људи износи 4 до 6 дана (29, 30). Даље се сматра да се, диференцијацијом из матичних ћелија, обнавља и више од 95% паријеталних ћелија. Послије настанка у вратном дијелу, ретроградном миграцијом (наниже), паријеталне ћелије се крећу до дна жлијезда. Миграција ових ћелија је чак и до 100 пута спорија од миграције мукусних ћелија и код људи траје око 3 мјесеца (30 - 32).

Зимогене ћелије такође настају из незрелих матичних ћелија, али је њихова регенерација могућа и самом митотском активношћу ових ћелија. Регенерација епителних ћелија антрума и фовеола такође настаје из незрелих ћелија на бази антрумских крипти. Сматра се да и ендокрине ћелије гастроинтестиналног тракта настају из матичних ћелија желудачне слузокоже (29 - 33).

2.3.6. Епителни муцини слузнице желуца

Муцини или мукосупстанце су продукти специјализованих ћелија и представљају сложена макромолекуларна једињења састављена од протеина и полисахарида везаних међусобно јаким ковалентним везама. Протеинску компоненту чини пептидни ланац који представља “кичму” молекула. Полисахариди граде разгранате бочне ланце који су припојени за протеинску основу (34). Конституенти угљенохидратних бочних ланаца су Н-ацетигалактозамин, Н-ацетилглукозамин, галактоза, фукоза и сијалинска киселина. Протеинско језгро је заштићено од протеолитичког дејства ензима (нпр. пепсина) угљенохидратним омотачем, али постоје дијелови протеинског језгра који су есенцијално без угљенохидратних ланаца, негликозилирани, па су подложни дејству протеолитичких ензима (35).

По Мауеговој класификацији из 1945.год. муцини се, на основу хистохемијских карактеристика, дијеле на неутралне - фукомуцине, слабо киселе - сијаломуцине и јако киселе - сулфомуцине. Фукомуцини садрже Н-ацетил деривате хексозамина, Д-галактозу, Д-манозу и Л-фруктозу. Фукомуцини немају киселе групе па се боје PAS методом (*Periodic Acid Schiff*). Сијаломуцини садрже хексозамин, глукуронску и сијалинску киселину, а сулфомуцини поред хексозамина и уронске киселине садрже и сулфатне групе (34 - 36).

У односу на структуру и физиолошке функције муцини су подијељени на секреторне и на мембранске муцине (37, 38). Секреторни муцини формирају физиолошку баријеру која штити епителне ћелије респираторног, дигестивног и репродуктивног система и облажу дукталне површине у дојци, панкреасу, јетри и бубрезима. Мембрански муцини доприносе

физиолошкој баријери и спроводе сигнале за раст и преживљавање у унутрашњост ћелије (38, 39).

Синтеза мукусних гликопротеина почиње у гранулираном ендоплазматском ретикулуму у коме се синтетише протеинско језгро. Након тога слиједи гликозилација вишеетапним додавањем појединачних молекула шећера чиме се формирају бочне угљенохидратне гране. Већи дио гликолизације се дешава у глатком ендоплазматском ретикулуму и Голџијевом апарату, након чега се преформирани мукус пакује и депонује у цитоплазматске везикуле тако да је спреман за секрецију. Секреција мукусних гликопротеина је спор али континуиран процес, чиме се одржава танак слој на површини слузокоже. Убрзана секреција се одвија под дејством различитих стимулуса, физичких или хемијских фактора. Муцини ослобођени из цитоплазматских везикула се везују за воду и у виду гела облажу слузокожу (40).

Најзначајније особине муцина су адхезивност, кохезивност, вискозност и способност адсорпције. *Адхезивност* је мјера силе којом је једна супстанца припојена за другу. Захваљујући снажној адхезивности муцини остају чврсто припојени за покровни епител. *Кохезивност* је сила којом су молекули у једној супстанци међусобно припојени. Захваљујући овој особини мукус ствара слој на површини слузокоже који комплетно покрива и премошћује зјапове крипти. *Вискозност* представља својство лепљивости, па изражена вискозност мукуса условљава отпорност на цурење и спречава десквамацију и одвајање од површине и мукусног слоја. *Адсорптивно* својство муцина се огледа у томе што је мукусни слој на површини у стању да апсорбује многе супстанце, па и бактерије из лумена (39 - 41).

Захваљујући примјени моноклонских антитијела идентификовани су гени који кодирају полипептидну срж муцинских макромолекула. Полипептидна компонента муцина показује велики полиморфизам, а алтерација ткивне експресије протеинског језгра муцина се може десити на транскрипционом, транслационом или посттранслационом нивоу. Муцински гени се експримирају на ћелијски, ткивни или орган-специфичан начин и могу бити up-или down-регулисани за вријеме карциногенезе или прогресије малигнитета. За желудац су карактеристични MUC1, MUC5AC, MUC5AB, MUC6 (41).

Промјене у муциноској експресији или гликозилацији праћене су развојем карцинома и утичу на ћелијски раст, диференцијацију, трансформацију, адхезију, инвазивност и имунолошку контролу. Муцини се зато користе као дијагностички маркер, а истражује се и могућност њихове примјене као терапијских мета код многих тумора. (39, 42)

2.4. Физиолошке функције желуца

Основне функције желуца су моторна и секреторна, при чему моторна функција подразумијева пријем, мијешање и транспорт хране, а секреторна натапање хране желудачним соком, који помаже у пробави (43).

Своје моторне активности желудац испољава кроз тонус и перисталтику. Тонус обезбјеђује константан притисак у лумену желуца, који износи 4-6cm воденог стуба, без обзира на количину унијете хране. Перисталтика се испољава у виду ритмичких контракција које се спуштају од кардије према пилорусу и ту се нагло губе. Ове контракције постоје и код празног желуца и могу бити изражене као “грчеви глади” (3). Уласком хране у желудац перисталтички таласи постају израженији и мијењају карактер. Тако проксимални дио желуца представља резервоар у коме се храна натапа желудачним соком и мијеша под утицајем спорих перисталтичких таласа плитких амплитуда, док је у дисталном дијелу

желуца (антруму) перисталтика пропулзионог типа, те су таласи много дубљих амплитуда и представљају тзв. “антралну пумпу”. Ови таласи омогућују истискивање мањих количина измијешаног желудачног садржаја у дуоденум. Вријеме истискивања зависи од врсте хране (течна храна се брже потискује), садржаја хране (масна храна се спорије транспортује) и њене киселости (што је рН нижи то је транспорт спорији). Пражњење желуца може бити поремећено код различитих патолошких стања, нпр. усљед стенозе пилоруса узроковане улкусом, тумором или притиском споља (44).

Функција секреције се у желуцу обавља захваљујући секрецији пепсина, муцина, хлороводоничне киселине, електролита и гастрина. Муцине секретују жлијезде локализоване углавном у предјелу кардије, хлороводоничну киселину луче паријеталне ћелије у фундусу и тијелу желуца, док главне или пептичне жлијезде луче пепсиноген који се у додиру са HCl претвара у пепсин. У жлијездама антрума се луче лако алкални муцини и хормон гастрин који је важан стимулус секреције HCl-а и пепсина. Гастрин повећава митотски индекс у вратној зони корпусне слузнице, диференцијацију у паријеталне ћелије и доводи до задебљања слузокожних набора.

Секреција желуца је регулисана неурогеним (вагусна стимулација) и хормоналним (гастрин) факторима и пролази кроз три фазе: цефаличну, гастричну и интестиналну (3, 44).

Цефалична фаза почиње гледањем или мирисом хране, а импулси који изазивају ову фазу потичу из коре великог мозга или из центра за апетит у амигдалним једрима хипоталамуса. Одатле се импулси преко *n. vagusa* преносе директно на паријеталне жлијезде које луче HCl, а истовремено вагус дјелује и на G-ћелије антрума доводећи до секреције гастрина, чиме се повезује цефалична са гастричном фазом секреције. Сви фактори који депримирају апетит се сматрају инхибиторима ове фазе, а хипогликемија индукована инсулином представља потентни неурогени стимулус парасимпатикуса који преко *n. vagusa* изазива гастричну секрецију на исти начин као и за вријеме цефаличне фазе.

Гастрична фаза почиње уласком хране у желудац и траје неколико сати. Својом запремином храна растеже антрални дио желуца и изазива лучење гастрина из G-ћелија, који са своје стране стимулише лучење главних и паријеталних жлијезда, највјероватније посредством хистамина. Када рН у желудачном садржају достигне вриједност 1,5 у антралној слузокожи, гастрински ефекат престаје и завршава се гастрична фаза секреције. Повратни механизам инхибиције желудачних жлезда игра важну улогу у заштити слузокоже од претјеране киселости (3).

Познато је да и хистамин стимулише гастричну секрецију преко специјализованих рецептора у гастричној слузокожи, који се не могу блокирати примјеном уобичајених антихистаминика, па су названи H₂ рецептори. Примјена хистамина као стимулуса се користи за испитивање адекватне примјене ваготомије (тзв. Кај-ов аугментациони хистамински тест) (45, 46).

Интестинална фаза почиње када храна напусти желудац. Дистензија дуоденума и горњих партија јејунума, повећана киселост, присуство масноћа и продукти разградње протеина доводе до ослобађања неколико цријевних хормона који смањују желудачну секрецију. Најважнији од њих су ентерогастрин (*Big Gastrin*) који утиче на секрецију HCl-а, холецистокинин и секретин који стимулишући панкреатичну, смањују желудачну секрецију. Блажи инхибиторни ефекат на желудачну секрецију има и соматостатин, GIP (гастрински инхибиторни пептид) и VIP (vasoактивни интестинални пептид) (21).

Између узимања хране желудац секретује само неколико милилитара желудачног сока на сат, који је сачињен од мукуса са веома мало пепсина и скоро нимало HCl-а. Снажни

емотивни стимулуси повећавају интердигестивну секрецију са повећањем количине пепсина и киселине (47).

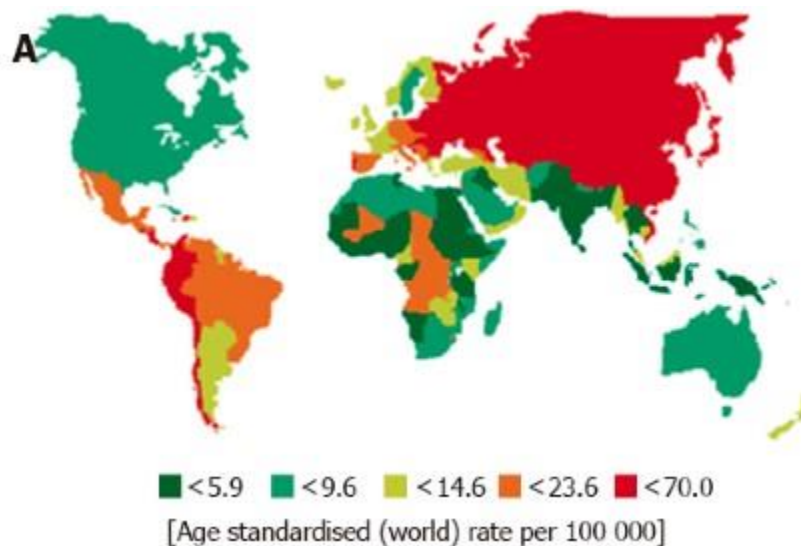
2.5. Карцином желуца

2.5.1. Епидемиолошки и демографски подаци

Без обзира на пад инциденце и стопе морталитета посљедњих деценија, карцином желуца је и даље четврти по учесталости малигни тумор, са око 1.000.000 новорегистрованих обољелих годишње и други (иза карцинома плућа) узрок смрти од канцера са стопом од преко 700.000 умрлих током једне године, на глобалном нивоу (1,48,49).

За карцином желуца је упадљива разлика у инциденци која је око 15-20 пута већа у земљама Источне Азије него у западноевропским земљама. Варијације у инциденци карцинома желуца се запажају и унутар једне земље, а типичан примјер је Италија, где се биљеже различите инциденце у различитим провинцијама (48).

Према подацима Свјетске Здравствене Организације (*World Health Organization - WHO*) више од 72% случајева карцинома желуца се јавља у земљама у развоју, а половина свјетске инциденце је у Источној Азији (50).



Слика 3. Географске варијације инциденце карцинома желуца
(*Parkin DM: International variation. Oncogene 2004*)

Највиша инциденца карцинома желуца од 69 случајева на 100.000 становника годишње се региструје у мушкој популацији Сјевероисточне Азије (Јапан, Кина, Кореја), док се ниска инциденца са стопом од 5 до 10 случајева на 100.000 становника биљежи у Сјеверној Америци, Африци, Сјеверној и Западној Европи и Јужној Азији. Средња стопа инциденце карцинома желуца је забиљежена у Источној и Јужној Европи и Јужној Америци (48, 51). Ове разлике у инциденци карцинома желуца се објашњавају различитим навикама

везаним за исхрану које подразумијевају слабу конзумацију свјежег воћа и поврћа, те висок унос конзервиране и јако усољене хране (2, 52).

Посљедњих 50 година је упадљив значајан пад морталитета од желудачног карцинома, у већини развијених земаља, што је највјероватније условљено смањеном учесталošћу хроничне инфекције *Helicobacter pylori* због примјене антибиотика, смањеном употребом слане и конзервиране хране и увођењем скрининг програма (2, 48, 52). Захваљујући масовним скрининзима, који се примјењују од шездесетих година, преживљавање од карцинома желуца је у Кореји повећано на 67% (53), у Јапану на 52% (54), док у Сједињеним Америчким Државама и у Европи стопа преживљавања износи 24% (1, 48). У централној Србији је, у периоду од 2002 до 2011 год., регистрован растући тренд стопе смртности у оба пола, при чему је стопа морталитета у мушкараца 1,3 пута већа у односу на жене (55).

Запажено је да хируршка ресекција у комбинацији са хемотерапијом код метастатских карцинома желуца, значајно побољшава преживљавање, посебно уколико је метастаза ограничена на једном мјесту (56, 57).

Карцином желуца је јако риједак прије треће деценије живота, а највећу учесталост достиже између 7. и 8. деценије живота, у оба пола. Бројне студије су показале да је карцином желуца два пута чешћи код мушкараца него код жена. Постоје сугестије да већа учесталост карцинома желуца у мушкараца може да буде условљена и разликама у учесталости различитих хистолошких типова карцинома желуца (2, 54, 58). Интестинални тип тумора доминира у областима високог ризика и сматра се одговорним за варијације у инциденци, а познато је да је интестинални тип карцинома чешћи у мушкараца, док је дифузна варијанта тумора релативно чешћа у жена (2, 58).

2.5.2. Етиологија

Етиологија карцинома желуца је непозната, али бројне епидемиолошке, експерименталне и генетске студије указују да је карцином желуца мултифакторска болест на чију генезу утиче интеракција ендогених фактора и фактора околине (2, 53, 59 - 61).

2.5.2.1. Навике и начин живота

Фактори околине. Варијабилна инциденца карцинома желуца у различитим земљама сврстава улогу животне средине у важне факторе ризика за настанак овог тумора (1, 6). Такође, већа учесталост карцинома желуца у градској популацији, него у људи који живе у пољопривредним насељима и знатно мања инциденца код миграната из подручја високог у области мањег ризика говоре о значајној улози фактора околине у желудачној карциногенези (50, 62, 63).

Социо-економски статус. Упадљиви су епидемиолошки подаци да је, у готово свим земљама свијета, изузев Јапана, инциденца карцинома желуца у обрнутој корелацији са социо-економским статусом, који обухвата бројне социјалне, културне и прехранбене факторе (64 - 67).

Навике у исхрани се истичу као фактор ризика који је најдоследније повезан са карциномом желуца, прије свега јер је храна дуго у контакту са желудачном слузницом. Извјештаји о утицају уноса меса и месних производа на развој карцинома желуца су прилично контрадикторни. Тако, док неки показују мали или потпуно негирају утицај уноса меса на генезу овог тумора, други показују значајну повезаност карцинома желуца са конзумацијом црвеног меса. Начин припреме меса такође игра важну улогу јер хетероциклични амини, који су иначе карциногени, настају излагањем меса екстремно

високим температурама. Димљена или храна која је печена на роштиљу се може сматрати значајним фактором ризика, због полицикличних угљоводоника који су доказани карциногени (68 - 70).

Сматра се да је појава карцинома у директној позитивној корелацији са исхраном у којој преовлађује туршија, слана риба, сушено и конзервирано месо, маст, уља, рафинисане житарице и индустријски шећер (67, 71, 72).

Повећана потрошња соли је идентификована као најчешћи карциногени фактор, при чему се истиче да со, због осмотског дејства, може прузроковати лезије мукозе са једне стране, а са друге стране је познато да со успорава пражњење желуца, чиме продужава дејство других карциногена из хране (73 - 75).

Значај нитрата присутних у храни за карциногенезу желуца је доказан у експерименту на пацовима и псима. Највећи извор нитрата су месне прерађевине и сушено месо. Нитрати се у желуцу, под утицајем бактерија које колонизују желудац, претварају у нитрите, који се потом везују за аminer и амиде стварајући нитрозоамине и нитрозоамиде, који су доказани карциногени (73, 76 - 78).

Конзумација алкохола и пушење имају значајан удио у повећању инциденце желудачног карцинома. Бројне епидемиолошке студије и мета анализе су показале да пушење цигарета повећава ризик за настанак карцинома проксималног дијела желуца чак за 2-3 пута. Сматра се да пушење, осим што може изазвати метаплазију и дисплазију слузнице желуца, потенцира карциногене ефекте *Helicobacter pylori* инфекције (79, 80).

Иако је утицај алкохола на желудац проучаван у великом броју студија, ипак не постоје убједљиви резултати који би га повезали са појавом карцинома, међутим постоје докази који идентификују алкохол као фактор ризика за прогресију болести (81, 82).

Гојазност се истиче као један од главних фактора ризика за аденокарцином кардије. Познато је да гојазност подстиче рефлукс киселог желудачног садржаја у једњак, што фаворизује настанак метапластичних промена (*Barrett-ов езофагус*), које су прекурсор карцинома једњака и споја једњак-желудац. Скорија истраживања указују да је висок индекс тјелесне масе значајно повезан са већим стопама морталитета од карцинома желуца у мушкој популацији (83, 84).

Рјеђи фактори ризика укључују полицикличне ароматичне угљоводонике, Epstein-Barr вирусну инфекцију и зрачење (85 - 87).

2.5.2.2. Ендогени фактори ризика

Генетски полиморфизам се идентификује као фактор ризика за настанак карцинома желуца углавном због гена који су удружени са инфламативним процесима као што су *IL-1 β* , *IL-1RN*, *IL-10* и *TNF- α* . Interleukin (IL)-1 β и фактор некрозе тумора (TNF)- α су моћни проинфламаторни цитокини који имају супресивни ефекат на продукцију желудачне киселине (88-90). IL-10 је антиинфламаторни цитокин који спречава ефекте проинфламаторних цитокина, а идентификоване су варијанте *IL-10* које утичу на њихову продукцију. Колонизација гастричне мукозе бактеријом *Helicobacter pylori* изазива имунолошки одговор који подразумијева и укључује велику разноврсност проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина. Вјерује се да супресија производње желудачне киселине узрокована помоћу IL-1 β и TNF- α потпомаже ширење *H. pylori* од антрума до тијела желуца и фундуса, доводећи до екстензивнијег гастритиса након кога настаје гастрична атрофија а затим и карцином. У прилог овога иду и резултати

експерименталних истраживања у којима је показано да су повишени нивои IL-1 β довољни да индукују дисплазију и карцином желуца (91).

Запажено је да особе са полиморфизмом *IL-1B-511T* алела имају повећан ризик за интестинални тип карцинома желуца у популацији бијеле расе (у не-азијској популацији) (89, 90). Носиоци *IL-1 RN2* не-азијског поријекла су показали повећан ризик за настанак желудачног карцинома, како интестиналног тако и дифузног типа, преобладајуће за туморе дисталног дијела желуца. Такође, удружени са повећаним ризиком за настанак карцинома желуца су: alel *TNF-308A* у популацији бијеле расе и *IL8-251AA* генотип у азијској популацији (89, 92).

Фамилијарни карцином желуца. Већина карцинома желуца се јавља спорадично, али око 8-10% тумора има наследну компоненту. Позитивна фамилијарна анамнеза је значајан фактор који повећава ризик за карцином желуца, по неким процјенама, чак за два до десет пута (93). Већина породичних случајева се квалификују као спорадични, јер изгледа да су и на њих утицали заједнички фактори околине као што су *H. pylori* инфекција, исхрана и социоекономски статус. Међутим, карцином желуца се може развити и као дио синдрома фамилијарних карцинома, укључујући синдром херeditарног дифузног карцинома желуца, Lynch синдром (херeditарни нон-полипозни колоректални карцином), фамилијарну аденоматозну полипозу, Peutz-Jeghers синдром (тријевна полипоза праћена пигментним промјенама на кожи и слузницама) и Li-Fraumeni синдром (94).

Херeditарни дифузни карцином желуца је риједак, аутосомно-доминантни поремећај који узрокује 1-3% свих случајева фамилијарних карцинома желуца. Овај синдром је узрокован различитим мутацијама гена који кодира E-cadherin, протеин ћелијске адхезије који је одговоран за одржање кохезије и архитектуре епителног ткива (95). У синдрому су нађене и мутације p53 и BRCA2 гена. Карцином желуца је описан и код монозиготних близанаца (96, 97). У присуству једне од ових мутација, ризик током живота за развој карцинома желуца је 70% до 80%, па се у овим случајевима препоручује профилактичка гастректомија око 20-те године живота (98).

Остала стања која повећавају ризик за настанак карцинома желуца укључују пернициозну анемију, Menetrier-ову болест (хиперпластична хиперсекреторна гастропатија), претходне хируршке интервенције на желуцу, хипертрофичну гастропатију, а примијећено је и да особе са крвном групом А чешће оболијевају од овог тумора (98 - 102).

2.5.2.3. *Helicobacter pylori*

Најзначајније сазнање за етиопатогенезу желудачног карцинома је да хронична *H. pilory* инфекција изазива морфолошке и физиолошке промјене унутар желудачног миљеа које повећавају ризик за неопластичну трансформацију (103). Многбројне ретроспективне, проспективне студије и мета анализе указују да је преко 90% карцинома желуца удружено са инфекцијом *Helicobacter pilory*, због чега су Интернационална агенција за истраживање канцера (*International Agency for Research - IARC*) и Свјетска Здравствена организација (*World Health Organization-WHO*) ову бактерију, још 1994 год. сврстале у карциногене I (прве) категорије.

Инфекција *H. pylori* у гастроинтестиналном тракту је повезана са различитим патолошким стањима, попут гастритиса, улкусом дуоденума и како интестиналним, тако и дифузним типом карцинома желуца (104 - 106). *H. pylori* припада роду *Helicobacter* који се састоји од најмање 24 врсте које су пронађене у гастроинтестиналном тракту људи и животиња. *Helicobacter pylori* је грам негативан, спирални, микроаерофилни бацил,

димензија 3.5 x 0.5 μ , са 4 до 6 флагела и омотачем који их штити од киселог окружења, и помоћу којих се бацил креће кроз заштитни слој мукуса и настањује између њега и епитела желуца (107). При томе око 80% бацила егзистира слободно, а остатак се везује за епител у коме изазива ултраструктурне промјене (108). Колонизацију, опстанак у неповољној киселој средини и избјегавање имуног одговора домаћина *Helicobacter pylori* постиже захваљујући томе што посједује ензим уреазу којим хидролизује желудачну уреу до амонијака и угљен-диоксида, чиме је омогућено одржавање неутралног рН (109, 110). Даље је запажено да *H.pylori* показује експресију уреа транспортног протеина (Urel-a) који успорава улазак урее у цитоплазму. Ова два механизма омогућују бактерији колонизацију људске желудачне мукозе (110).

H. pylori се најприје насељава у антралној слузници где је рН виши него у корпусној која продукује киселину. Затим се *H. pylori* заједно са пратећом инфламацијом шири ка корпусној мукози и у таквим условима инфицирана особа развија пангастритис који сам по себи није повезан са значајном болешћу. Међутим, антрални гастритис је удружен са хиперхлорхидријом и атрофијом што представља висок ризик за настанак дуоденалног улкуса, са једне стране, и значајан је фактор ризика за желудачни карцином са друге стране. Истовремено, гастритис присутан у корпусу доводи до хипохлорхидрије и атрофије што такође представља ризик за карцином (111, 112). Због слабокиселог окружења и друге бактерије колонизују желудачну слузокожу, а њихове активне редуктазе трансформишу нитрате из хране у нитрите који су способни да реагујући са амидима, аминима и уреом, продукују карциногена Н-нитрозо једињења (113).

H. pylori инфекције имају земље са високом инциденцом карцинома желуца. Овом бактеријом је инфицирано преко 50% свјетске популације (114). У развијеним земљама је смањење инциденце карцинома желуца праћено смањењем процента инфицираних са *H.pylori*, за разлику од Африке у којој је инциденца карцинома желуца ниска, док је *H. pylori* инфекција честа (115).

Сматра се да инфекција настаје у раном дјетињству, а преноси се највјероватније фекооралним путем, или пак контаминираном храном и водом, али уколико се не лијечи антибиотикима инфекција перзистира током живота (116). Преваленција инфекције је обично праћена пренасељеношћу, лошим хигијенским условима и ниским социоекономским статусом (1, 67). По процјенама IARC-а је око 59% случајева карцинома желуца у развијеним земљама и око 63% у земљама у развоју повезано са *H. pylori* инфекцијом. Извјештаји кохортних студија указују да ризик за настанак карцинома желуца код особа са *H. pylori* инфекцијом износи 2,36% (114). Сматра се да је *H. pylori* инфекција повезана и са интестиналним и са дифузним типом карцинома, а бројне епидемиолошке студије су показале да је инфекција са овом бактеријом више повезана са дисталним него са проксималним типом карцинома желуца (1, 117 - 119).

Захваљујући факторима вируленције које посједује *H. pylori* је у могућности да обезбиједи значајно место у желудачној карциногенези. Прије свега, већ поменуте флагеле и ензим уреазе омогућују бактерији да брзо уђе из лумена у желудачну мукозу и да одржава неутрални рН у микросредини желуца (107, 109, 110). Сљедећи важан фактор вируленције *H. pylori* је *cag* патогено острвце (*cytotoxin-associated gene pathogenicity island*) или група гена који су дио хромозомалне DNA и који садрже око 31 ген (120). Група *cag* гена укључује факторе вируленције *Caг A*, *Vac A* (*vacuolating toxin A*), *Bab A* (*blood group antigen-binding adhesin*), *Oip A* (*outer inflammatory protein*) и *Ice A* (*induced by contact with epithelium*) (120 - 122).

Сматра се да Cag+ сојеви *H. pylori* значајно повећавају ризик за настанак карцинома желуца, будући да су повезани са тешким гастритисом, пептичним улкусом и атрофијом желудачне мукозе (119, 121, 123). У *in vivo* и у *in vitro* условима је показано да трансгена експресија Cag A код мишева изазива пролиферацију ћелија желудачног епитела и развој карцинома (124), а осим тога је показано и да Cag A+ сојеви умањују апоптозу што указује да је овај молекул и бактеријски онкоген (125).

H. pylori ген VacA кодира цитотоксични протеин VacA који је првобитно идентификован на основу способности да индукује вакуолизацију у култури епителних ћелија, а поред тога он и стимулише апоптозу (126). VacA блокира пролиферацију трансформисаних Т-ћелија, што допушта дуготрајну колонизацију и тиме повећава ризик за малигну трансформацију, а такође кочи експанзију примарних хуманих CD4⁺ Т ћелија које су активирани бактеријским антигенима, чиме је омогућено да *H.pilory* избјегне имуни одговор домаћина (127, 128).

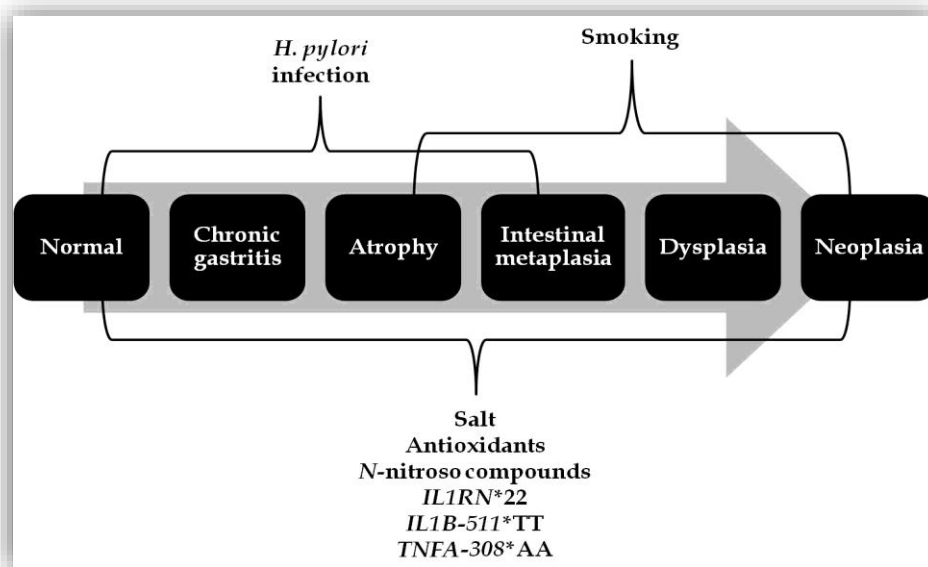
За разлику од Cag A, сви сојеви *H. pylori* посједују VacA ген, али га само око 50% њих експримира (122). Запажено је да *H.pilory* сојеви који садрже Cag A, VacA и Bab A носе повећан ризик за желудачни карцином (129).

2.5.3. Желудачна карциногенеза

Након многих дебата око хистогенезе карцинома желуца, у литератури је ипак прихваћен мултифакторски, каскадни („Correa cascade“) модел желудачне карциногенезе (123). По њему је карцином желуца вишеетапни процес континуираних прогресивних лезија слузнице, који настаје „међуигром“ *Helicobacter pylori* инфекције, генетске предиспозиције, навика и начина живота. При томе наслијеђене и/или стечене генске компоненте, у ћелији, временом подлијежу утицају различитих ендогених или фактора околине, што резултује накупљањем генских мутација које се на крају фенотипски презентују као преканцерозне лезије (5, 130).

Шема 1. „Correa преканцерозна каскада“

(Correa P, Puazuelo MB. The gastric precancerous cascade. J Dug Dus. 2012.)



Карциногена каскада започиње акутним површинским (неатрофичним) гастритисом који прелази у мултифокални атрофични гастритис без метаплазије, а овај прогредира у атрофични гастритис са интестиналном метаплазијом, најприје комплетног, а затим инкомплетног типа (131, 132). Каскадни процес се наставља интраепителном неоплазијом (дисплазијом) која даље прогредира у карцином (5, 130, 133). Овај преканцерозни каскадни процес је описан од стране Соггеа и сар. на основу испитивања колумбијске популације са високим ризиком од карцинома желуца (131, 133). Након идентификације *Helicobacter pylori*, као узрочника гастритиса у 198.348 болесника уочено је да је преканцерозни процес покренут и да га одржава инфекција овом бактеријом. Аутори сматрају да промјене које претходе малигној трансформацији могу да трају деценијама (134, 135, 136).

Суперфицијални гастритис представља почетни стадијум „Соггеа cascade“ и карактерише се промјенама у покровном епителу, криптама и крзну између крипти, док у glandуларном слоју нема микроморфолошких промјена (137). Гастритис је широко распрострањен, а потребно је нагласити да се атрофија и метаплазија не дешавају увијек, већ суперфицијални хронични активни гастритис може трајати и без прогресије. Исто тако *Helicobacter pylori* није једини узрок хроничног гастритиса, али је најчешће повезан са неопластичном трансформацијом (108, 138).

Мултифокални атрофични гастритис настаје прогресијом суперфицијалног неатрофичног гастритиса (130). Нарочито је чест у земљама са високом учесталашћу желудачног карцинома. Микроморфолошки се у мукози запажају glandуларна атрофија, која се манифестује мултиплим изолованим фокусима распоређеним по цијелој желудачној слузници, и мононуклеарни инфилтрат (137). Овај тип гастритиса прогредира са годинама и има карактеристичну топографску дистрибуцију. У млађих особа се углавном локализује на малој кривини у проксималном дијелу антрума и на граници антрум-корпус на предњем и задњем зиду желуца. У старијих људи промјене су, у почетку, локализоване на малој кривини антрума и корпуса, а касније захватају и предњи и задњи зид желуца (5, 130). У одмаклом стадијуму мултифокалног гастритиса смањена је секреција киселине и пепсиногена, док су нивои гастрина у серуму варијабилни. Управо због тога користан маркер унапредовале атрофије је значајан пад серумског нивоа пепсиногена I (PGI) и пепсиногена II (PGII) (139). У Јапану се изражена атрофија желуца дијагностикује када су серумски нивои PGI <70 µg/L, а однос PGI/PGII <3. Ови нивои су се показали корисним за идентификацију особа са високим ризиком, којима би требало понудити праћење стања (140). Постоји процјена да око 10% болесника са овим типом гастритиса развије карцином током око 15 год. Мултифокални атрофични гастритис је често присутан у околини улкуса и карцинома (137).

Интестинална метаплазија је парцијална или потпуна трансформација епителних елемената желудачних жлијезда у интестиналне (141). Гастритис и атрофија мијењају киселу желудачну секрецију и омогућују анаеробним бактеријама да колонизују желудачну мукозу. Настанак интестиналне метаплазије је посљедица хипоацидитета и анацидитета условљеног атрофичним гастритисом и редукованим паријеталним и гастрин секретујућим ћелијама. Метапластични епител, уместо секреције, врши апсорпцију која омогућава приснији контакт са карциногеним агенсима у лумену (108, 142, 143).

На основу хистолошке грађе и хистохемијских карактеристика муцина у пехарастим ћелијама разликују се три основна типа интестиналне метаплазије. Нормална слузница садржи неутралне муцине, док се код интестиналне метаплазије појављују слабо и јако кисели муцини (сијаломуцини и сулфомуцини) (39). Код комплетне интестиналне метаплазије епител садржи све елементе слузокоже танког цријева: пехарасте ћелије,

ентероците, Paneth-ове и ЕС ћелије интестиналног типа. Комплетна метаплазија показује квалитативну измјену муцина при чему су неутрални „желудачни“ муцини знатно редуковани, а појављује се хиперсекреција слабо киселих сијаломуцина (39, 42). Имунохистохемијски постоји преминација MUC2, док је секреција MUC1, MU5AC и MUC6 упадљиво смањена (40). За ову метаплазију је карактеристична активност низа ензима четкастог покрива танког цријева попут алкалне фосфатазе, LDH, LAP (леуцил аминоксаптаза), SDH (сорбитол дехидрогеназа) и др (3).

Код инкомплетне метаплазије нису присутне Paneth-ове ћелије и нема метаплазије гастричних и интестиналних ЕС ћелија. Пехарасте ћелије секретују слабо киселе сијаломуцине, а изузетно ријетко постоји и секреција јако киселих сулфомуцина. Уколико је присутан целуларни и нуклеарни полиморфизам и дедиференцијација ћелија говори се о диспластичној метаплазији (39, 42).

Трећи тип метаплазије је познат као колонска метаплазија, јер се слузокожа желуца трансформише у слузокожу колона. Карактерише се присуством јако киселих сулфомуцина у пехарастим ћелијама. Овај тип метаплазије посједује највећи ризик за настап карцинома желуца (3, 135, 144).

Дисплазија (*интраепителна неоплазија или неинвазивна неоплазија*). Смањење секреције желудачне киселине и пратећи пораст рН који доводи до колонизације лумена желуца бактеријама има за посљедицу даље оштећење слузокоже било директно или путем бактеријске продукција нитрита и Н-нитрозамина из нитрата који храном доспијевају у желудац (78, 108, 143).

Дисплазија је неопластична лезија ограничена на епител, без инвазије у *lamina propria* и углавном се класификује као лезија ниског и високог степена. Дисплазија ниског степена се карактерише многобројним нагомиланим жлијездама које су ограничене цилиндричним ћелијама са хиперхроматским, издуженим и псеудостратификованим једрима поређаним у близини базалне мембране. Дисплазија ниског степена показује минималну алтерацију архитектонике glandула, а ћелије показују благу до умјерену атипичност (3, 141). Уколико иритативни процес траје дуго, настају структурна оштећења, што се манифестује губитком диференцијације и оштећењем слузокожне баријере, чиме је условљен настап ерозија. Поремећај диференцијације се манифестује смањењем или потпуним губитком мукуса, ишчезавањем разлика између главних, мукусних и паријеталних ћелија и повећаним бројем митоза у читавом покривном епителу (40, 42, 135).

У дисплазији високог степена, диспластичне ћелије су обично кубоидне прије него цилиндричне, са високим нуклеоцитоплазматским односом, губитком поларитета једара и проминентним нуклеолусима. Постоји упадљива митотска активност, понекад са атипичним митозама и видљива архитектонска дисторзија са glandуларним гомилањем, гранањем и пупљењем (130). У пракси је веома тешко да се издиференцира карцином *in situ* од овог типа дисплазије а процењује се да дисплазија високог степена у 60-85% случајева прогредира у карцином желуца (145, 146).

У неким земљама, попут Јапана дисплазије високог степена се класификују као интрамукозни карцином и неријетко се сматрају индикацијом за операцију (147).

Слијед молекуларних промјена током желудачне карциногенезе још увијек није сасвим дефинисан, али се сматра да су генска нестабилност, активност теломераза и мутације р53 гена рани догађај у карциногенези желуца (148, 149). Инактивација супресорних гена р53 и р16 пронађена је и у интестиналном и у дифузном карциному желуца, док је мутација гена аденоматозне полипозе колона (APC) чешћа у интестиналном типу карцинома. Смањење или губитак ћелијских адхезионих молекула E-cadherina се виђа

у око 50% дифузног типа карцинома, а микросателитна нестабилност се може наћи у приближно 20-30% карцинома желуца интестиналног типа. (150 - 154).

Кад је овај концепт у питању вјерује се да су сви стадијуми који претходе развоју „high grade“ дисплазији потенцијално реверзибилни, али гени који су укључени у прогресију карцинома желуца још увијек нису сасвим дефинисани. Осим тога, преканцерозни стадијуми карцинома желуца нису тако лако ендоскопски препознатљиви као код карцинома колоне, а затим многи карциноми желуца имају врло хетероген хистолошки образац раста и садрже висок проценат нормалних стромалних ћелија које могу довести до забуне у генетској анализи (130, 131).

2.5.4. Рани карцином желуца

Према дефиницији „раног рака“, коју је 1962. год. дало Јапанско гастроентеролошко друштво у сарадњи са патолозима, рани рак је дефинисан као карцином у раним фазама развоја који је локализован у мукози (интрамукозна форма), или у мукози и субмукози (субмукозна форма), без обзира на присуство метастаза у лимфним жлездама. Кад је у питању име ове лезије треба нагласити да се не ради о трајању болести, него о дубини инвазије. Термин „рани“ су увели јапански аутори аналогно раној туберкулози, односно туберкулози у излечивој фази болести (155, 156). Због своје повољне прогнозе са стопом петогодишњег преживљавања од 90-100% за интрамукозни и 80-85% за субмукозни тип, рани рак је издвојен из групе узнапредованих карцинома који захватају мишићни и дубље слојеве желуца, за које се стопа петогодишњег преживљавања креће од 10-45% (155 - 157).

По клиничким особинама се рани рак прилично разликује од узнапредовалог карцинома. Прије свега, симптоми, који су више налик на бенигни желудачни улкус него на узнапредовали карцином, трају знатно дуже, а и губитак тјелесне тежине је ријетко присутан (156, 157).

2.5.4.1. Учесталост и дистрибуција

Учесталост раног рака је пропорционална дијагностичким могућностима, па је тако до увођења фиброоптичке гастроскопије и радиографије са двоструким контрастом, и његова инциденца била веома ниска, док се данас, у Јапану, открива и до 50% раних варијанти карцинома желуца. У Сједињеним Америчким Државама и другим западним земљама рани карцином представља само 10-15% свих карцинома желуца (157, 158).

Подаци о дистрибуцији раног рака у односу на демографске особине су различити у различитим земљама, али се глобално гледано запажа да је рани рак чешћи у мушкараца и да се најчешће дијагностикује у седмој деценији живота.

Већина ових тумора је димензија од 2-5cm и предоминантно се локализује у антралној регији и на малој кривини желуца, при чему је око половине случајева локализовано у средњој трећини, затим у доњој трећини, а најређа локализација раног рака је у горњој трећини. Веома мали проценат тумора је мањи од 5 мм и ове лезије су класификоване као „minute“ карциноми, који су најчешће равне лезије, па се због тога тешко верификују ендоскопски. (2, 3).

Као и код других органа рани рак може бити мултицентричан и локализован у различитим дијеловима желуца. Изражену мултифокалност најчешће имају мали и минимални карциноми. Сматра се да се мултифокалност јавља у 4-20% раних карцинома желуца (159). Постојање оваквих лезија има велики клинички значај, прије свега због могућности останка оваквих лезија у желуцу, након ресекције, а затим и због могућег

настанка „рецидива“ раног рака. Сматра се да на број канцерских жаришта утиче дистрибуција преканцерозних лезија (160, 161).

2.5.4.2. Ендоскопска (макроскопска) класификација раног карцинома желуца

Јапанско удружење ендоскописта је на основу макроскопских особина, рани рак класификовало у три категорије, при чему је тип II подијељен у три подтипа (162):

Тун I је уздигнута лезија, има полипоидни изглед и јасно је ограничена од околне слузокоже. Већина су сесилни, ситнозрнасте или карфиоласте површине, најчешће су солитарни и величина им ријетко прелази 2 цм.

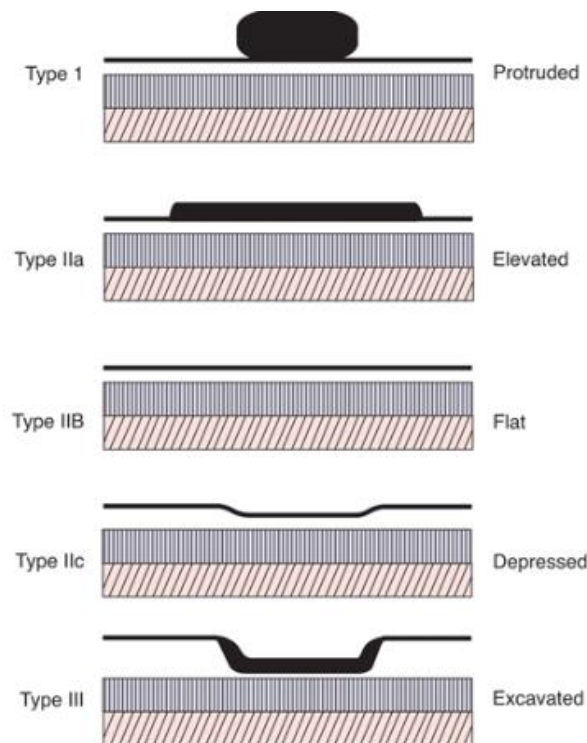
Тун IIa је уздигнута лезија са широком базом и пљоснатим уздигнућем које је састављено од неправилних чворића.

Тун IIб је лезија најчешће у равни слузокоже, тежак је за ендоскопску дијагнозу и најчешће се уочава по блиједој боји слузокоже.

Тун IIc је улегнута лезија величине око 2 цм у пречнику. Уколико је околна слузокожа узвишена, онда се говори о комбинованој лезији (IIc + IIa). Слузокожа је у канцерској ерозији подложнија пептичном дејству желудачног сока од нормалне слузокоже, чиме се може објаснити настанак канцерске ерозије са улцерацијом.

Тун III, екскавирајући тип, је лезија која наликује пептичком улкусу са слузокожним наборима који конвергирају ка улцерацији, али се нагло истањују или чак ишчежавају Ова лезија је најчешће комбинована са неким од претходних облика.

Најчешћи ендоскопски тип је канцерска ерозија (*Тун IIc*) , затим следи тип III, а најрјеђе се дијагностикује тип IIб.



Слика 4. Макроскопска класификација раног карцинома желуца

2.5.4.3. Хистопатолошка класификација раног карцинома

Kodama и сар. на основу хистолошког обрасца раста разликују четири типа раног карцинома желуца (163):

„*Superficially spreading type*“ (*SUP-TIP*) је суперфицијално ширећи карцином који захвата само мукозу или показује површну, благу инвазију субмукозе. Пречник овог типа тумора је већи од 4 цм.

Пенетрантна лезија (*PEN-TIP*) пенетрира субмукозу и у зависности од тога да ли инфилтрише субмукозу на експанзиван начин или врши инвазију *laminae muscularis mucosae* дели се на *PEN A* (експанзиван раст) и *PEN B* (инфилтративан раст) подтип. *PEN-TIP* лезија је мања од 4цм у пречнику.

Мали мукозни карцином који је мањи од 4цм.

Опсежна истраживања „малих“ карцинома су условила различиту терминологију којом се они означавају. По Oohari и сар. „мали“ рак је канцерско жариште пречника 5-10мм, док је „минимални“ (minute) карцином канцерско поље мање од 5мм у пречнику (8). Осим „минималног“ карцинома Hattori и сар. издвајају и „иницијалну“ лезију мању од 0,5мм у пречнику која захвата само неколико жлезданих структура (164, 165). Овдје се ради о добро диферентованој лезији, у чијој се околини запажа инкомплетан тип интестиналне метаплазије.

Трећи тип „раног“ карцинома је карцином *in situ* који се односи на интрагландуларне лезије, односно карцином који је ограничен само на жлијезде (146).

2.5.4.4. Хистогенетска класификација раног карцинома

Усаглашен је став да рани карцином не настаје *de novo*, већ се развија из преканцерозних лезија тј. из интестиналног и диспластичног епитела желуца. Преканцерозна лезија за „signet ring cell“ карцином није прецизно дефинисана, али су Grundmann и сар. више пута истакли „dropping off“ феномен “signet ring” ћелија из вратне регије желудачних жлезда (166).

Хистогенетски је рани рак подељен на:

1. Интестинални тип
2. Signet ring cell тип
3. Анапластични тип и
4. Мјешовити тип

Интестинални тип раног карцинома је грађен од жлијезда различитог степена диференцијације, при чему је базална мембрана жлијезда веома често разорена. Метастазе у регионалним лимфним жлездама су ријетке у случају интрамукозних типова раног рака. Мишљења су у погледу метастазирања раног рака подијељена. Oohara и сар. негирају способност метастазирања интрамукозног раног карцинома, међутим други аутори су нашли регионалне лимфогене метастазе у 14% субмукозних карцинома (167), а описане су чак и хематогене метастазе раног рака у јетри (168). У просјеку, метастазе у лимфним нодусима се нађу у око 5% интрамукозних тумора и у око 10-20% оних тумора који инвадирају субмукозу (2, 169) .

Signet ring cell тип је грађен од групица или трака “signet ring“ ћелија (ћелије са великом вакуолом, па личе на прстен печатњак), које су локализоване између желудачних жлијезда. Ћелије садрже неутралне или киселе муцине, а митозе се теже уочавају. Тумор често има ерозивно-улцерозни аспект, а околна слузокожа је у већине случајева задебљана, што може маскирати тумор током ендоскопије (3).

Анапластични тип је сачињен од плажа полиморфних ћелија, са свијетлим једрима и проминентним једарцима, које се налазе у интерстицијуму између жлијезда. Овај тип раног рака је најрјеђи хистолошки тип.

Мјешовити тип је грађен од жлијезда и ћелија „signet ring“ типа. Ова хистолошка варијанта је честа код мултифокалних раних карцинома. Будући да су инвазија и метастазирање у регионалним лимфним жлездама учестали налаз, то се сматра да мјешовити тип раног рака има лошу прогнозу (170).

2.5.4.5. Лијечење раног карцинома

За рани карцином желуца се сматра да је у високом проценту изљечива болест уколико се примијени адекватна ресекција (171). Најприје у Јапану, а касније и у другим земљама, за ресекцију раних канцерских лезија се користе ендоскопска субмукозна ресекција и ресекција дијатермијским ножем са којима се углавном успјешно лијече рани диферентовани карциноми пречника мањег од 2cm (172, 173). Уз ресекцију се ради и лапароскопска дисекција лимфних нодуса., чиме се избјегавају опсежни оперативни захвати. Уколико се у лимфним нодусима открију метастатски депозити, у другом акту се приступа стандардној гастректомији са проширеном дисекцијом лимфних чворова (161, 172, 174, 175).

2.5.5. Инвазивни карцином желуца

Далеко најчешћи малигни тумори су аденокарциноми, који чине преко 95% свих малигнух тумора желуца. Аденокарцином може настати из жаришта интестиналне метаплазије, мукусних ћелија фовеоларног и покровног епитела, недиферентованих ћелија из врата жлијезда, из пилоричних и из кардијалних жлијезда. Карцином желуца не може настати из диферентованих главних и паријеталних ћелија (164).

Широк спектар топографских, макроморфолошких, хистоморфолошких и клиничких особености аденокарцинома желуца је условио настанак бројних класификационих система помоћу који је успостављена олакшана комуникација међу љекарима.

2.5.5.1. Топографска класификација карцинома желуца

Извјештаји из литературе истичу да је локализација тумора један од важних прогностичких фактора, како са епидемиолошког и хистогенетског, тако и са терапеутског аспекта (176, 177).

Локализација тумора одређује се подјелом желуца на три анатомске регије: горње трећине (фундус и кардија), средње трећине (корпус) и доње трећине желуца (антрум и пилорични регион). Мања проширења тумора у околне дијелове желуца се не сврставају посебно, али су велика проширења тумора сврстана у одвојене категорије: горња и средња трећина, средња и доња трећина и тотална захваћеност желуца (176, 177).

У прилог прогностичког значаја локализације тумора у желуцу говоре разлике у инциденци и морталитету између проксимално локализованог карцинома и карцинома локализованог у дисталном дијелу желуца. Наиме, запажено је да се, упркос смањењу укупне инциденце карцинома желуца, инциденца карцинома проксималног дијела и кардије повећава, нарочито у мушкој популацији, за разлику од карцинома локализованих у дисталном дијелу желуца чија је инциденца у паду (176, 178, 179). Такође, постоји запажање да је карцином кардије углавном дифузног типа, док је дистални карцином желуца

предоминантно интестиналног типа (94). Даље, карцином кардије има знатно лошију прогнозу од карцинома дисталног дијела желуца, са краћим петогодишњим преживљавањем и већим оперативним морталитетом. Такође је запажено да је карцином кардије око пет пута чешћи код мушкараца у односу на жене (180).

У средњој трећини желуца се локализује око 15-25% желудачних карцинома. Дуго су асимптоматски, све док тумор не постане палпабилан, са метастазама у регионалним лимфним жлездама. Око 35% карцинома желуца се локализује у доњој трећини, често дају опструктивне синдроме, па се њихова дијагноза поставља раније него код карцинома друге локализације у желуцу (24).

2.5.5.2. Макроскопска класификација карцинома желуца

Прву класификацију на основу макроскопског изгледа тумора дао је Vogtmann још 1926.год., али се она још увијек користи у ендоскопији, јер је једноставна и има четири главна обиљежја (181):

Tun I - полипоидни или печуркасти карциноми са типичном нодуларном или карфиолостом вегетацијом, са широком базом, која расте у лумен желуца. Најчешће су локализовани у предјелу фундуса и кардије. У већини случајева су добро диферентовани.

Tun II - циркумскриптно-улцерозни карциноми. Презентују се као улцерације са уздигнутим бедемастим ивицама. Јасно су ограничени од околине и обично су локализовани на малој кривини желуца или у антруму. Најчешће се ради о добро диферентованим туморима. Често се ендоскопски тешко диференцирају од бенигнух улкуса (177).

Tun III - улцерозно-инфилтративни карциноми, који се дифузно шире кроз зид желуца, који постаје задебљан, без перисталтике и ригидан. Углавном се ради о слабо диферентованим карциномима (177).

Tun IV- дифузно-инфилтративни типови се презентују као задебљања која захватају дифузно желудачни зид претварајући га у ригидну „кожну боцу“ („*linitis plastica*“), када обично настаје сужење лумена желуца скоро цијелом дужином. Ови тумори су слабо диферентовани и имају значајно лошију прогнозу од претходних типова.

Од укупног броја карцинома желуца око 10% случајева припада типу I, а најучесталији је тип III (182).

2.5.5.3. Микроскопска класификација карцинома желуца

Поред бројних класификација присутних у литератури, још увијек не постоји јединствена и општеприхваћена микроскопска класификација желудачних карцинома. Хетерогеност ових хистолошких класификација углавном дјелује збуњујуће, будући да узимају у обзир или само начин ширења тумора, или хистогенезу или степен диференцијације. Поред свега, постоји и разлика између микроскопских класификација у Јапану и у Европи (155).

Borders је 1942. год. представио прву микроскопску класификацију у којој је карциноме желуца класификовао у четири степена, у односу на степен ћелијске диференцијације тумора, не узимајући у обзир макроскопски изглед тумора и клиничку слику (182).

Pekka Lauren је 1965. год., на основу узорка од 1344 пацијента оперисаних од карцинома желуца на Универзитету у Турку (Финска), у периоду од 1945-1964. год., желудачне карциноме подијелио у двије основне групе – дифузне и интестиналне. Овим

двјема групама је сам Lauren придодао и трећу групу у којој тумори имају особине из обе претходне групе (183). По Lauren-у дифузни тип је сачињен из слабо кохезивних ћелија са мало или нимало жљезданих формација. Интестинални карцином са састоји из жлијезда са различитим степеном диференцијације. Тумори који садрже отприлике једнаку количину дифузне и интестиналне компоненте су названи мјешовитим туморима (2, 183). У сљедећим деценијама су се појавили бројни класификациони системи:

Nakamura 1968. год. категорише туморе на диферентоване и недиферентоване (184).

Muligan 1972. год. дијели карциноме на мукусни, интестинални и тип са пилорокардијалним жлијездама (185).

Ming је 1977. год. предложио класификацију која је заснована на начину раста и инвазивности. На основу ове класификације карциноми се дијеле на инфилтративни и експанзивни тип. Експанзивни тип потискује околне структуре и туморске ћелије су окружене малом количином фиброзног ткива. Инфилтративни тип је малигнији и карактерише се дифузним ширењем са инфилтрацијом маргине (186).

Свјетска здравствена организација 1990. год. на бази морфолошких карактеристика класификује карциноме желуца на аденокарцином, аденосквамозни карцином, сквамозни карцином, недиферентовани карцином и неклассификовани карцином. У односу на хистолошки образац раста аденокарциноми се даље дијеле на папиларни, тубуларни, желатинозни и signet ring cell карцином, а сваки од ових типова се додатно класификује по степену диференцијације (182).

Goseki 1992. год препознаје 4 типа на основу тубуларне диференцијације и интрацелуларне продукције муцина. Тип I се састоји из добро диферентованих тубула са слабом продукцијом интрацелуларних муцина. Тип II чине добро диферентовани тубули са богатим интрацелуларним муцинима. Типу III припадају тумори са слабије диферентованим тубулима и слабом продукцијом муцина, док типу IV припадају тумори са лошом тубуларном диференцијацијом и обилним интрацелуларним муцинима (187).

Carniero 1997. год предлаже систем који има 4 категорије на основу морфологије и имунофенотипа (гландуларни, изоловане ћелије, солидни и мјешовити). Тако су тумори, одређени као интестинални по Lauren-у, субклассификовани у туморе са интестиналном, гастричном или мјешовитом диференцијацијом (188). Линија диференцијације може бити установљена употребом желудачних маркера: MUC5AC, MUC6 и trefoil peptid TFF1 или интестиналних маркера - MUC2, CD10 и транскрипционог фактора CDX2 (189, 190).

Свјетска здравствена организација је поново 2000. год објавила ревидирану класификацију из 1990. год. и доноси нову, на бази преобладајућег хистолошког типа тумора, при чему један од 4 облика увијек доминира. По овој класификацији карциноми желуца се дијеле на аденокарциноме, папиларне аденокарциноме, тубуларне аденокарциноме, муцинозне аденокарциноме, signet ring cell карциноме, сквамозно-ћелијске, ситноћелијске и недиферентоване карциноме. Група аденокарцинома, по овој класификацији укључује интестинални и дифузни тип (177).

Свјетска здравствена организација 2010. год објављује ревизију класификације из 2000-те године. У ревидираној хистолошкој класификацији папиларни, муцинозни, тубуларни и слабо кохезивни карциноми (signet ring cell прије свега) више нису самосталан хистолошки ентитет, већ су сви „преведени“ у групу аденокарцинома (2).

Хистолошки тип карцинома желуца (СЗО, 2010)
Аденокарцином <ul style="list-style-type: none"> - Папиларни аденокарцином - Тубуларни аденокарцином - Муцинозни аденокарцином - Слабо кохезивни карциноми (signet ring cell карцином и друге варијанте) - Мјешовити аденокарцином
Аденосквामозни карцином
Карцином са лимфоидном стромом (медуларни карцином)
Хепатоидни аденокарцином
Сквामозноћелијски карцином
Недиферентовани карцином

Табела 1. Хистолошка класификација карцинома желуца СЗО (IARC, Lyon 2010)

Класификација Свјетске здравствене организације (СЗО) је чисто дескриптивна и не узима у обзир хистогенетске и клиничке импликације, па из тих разлога није апсолутно примјенљива.

У савременој литератури се углавном употребљава опште усвојена хистолошка класификација по Lauren-у, која је једноставна и прихваћена је од већине патолога за одређивање микроморфолошких типова карцинома желуца. Lauren-ова класификација изражава јасне етиолошке, хистогенетске и прогностичке значајности за интестинални и дифузни тип, па је корисна и у погледу њихове повезаности са факторима околине, инциденцом и прекурсорима (4).

2.5.5.4. Интестинални карцином желуца

Интестинални тип карцинома желуца су Correa и сар. предложили за модел желудачне карциногенезе, јер се зна да овај тип аденокарцинома типично настаје на подлози преканцерозних лезија као што су атрофични гастритис и интестинална метаплазија (5, 191).

Овај тип карцинома је чешћи код старијих узрасних група и учесталији је у мушкараца. Доминира у географским подручјима са високом инциденцом желудачног карцинома (Јапан и Далеки Исток), што сугерише значајан утицај фактора околине на генезу интестиналног карцинома (75, 192).

По Lauren-у интестинални тип чини 53% свих желудачних карцинома и у око 60% случајева има макроскопски начин раста по Vormannu I и II. Тумор је грађен од препознатљивих жлијезда са митотски активним цилиндричним ћелијама, са увећаним хиперхромним једрима и са акумулацијом муцина у лумену жлезданих структура (183). У тумору су често присутне варијације у хистолошком обрасцу раста, тако да се срећу тумори са доминантно папиларним структурама или са обилном количином муцина, или пак са доминантном колоидном компонентом. Туморске плаже су у око 80% случајева окружене пољима интестиналне метаплазије и солитарним или мултиплим полипима (183, 193).

У зависности од степена диференцијације, описују се добро, средње и лоше диферентован тип. У добро диферентованих тумора жлијезде су добро развијене и имају

тубуларни или тубулопапиларни изглед. Покривене су високоцилиндричним ћелијама са једрима која показују различит степен атипичности (194).

У средње диферентованом интестиналном типу жлијезде су мањих димензија, њихов епител је кубоидалан, понекад и аплатиран и без пехарастих и Paneth-ових ћелија (3, 194).

Лоше диферентован тип је грађен од једва очљивих жлијезда, које попримају изглед трабекула састављених од незрелих ћелија које луче мукус. Количина мукуса је јако варијабилна, а када је мукус обилан често долази до стварања калцификата. Понекад се може видјети и метапластична осификација у примарном тумору или у метастазама (3, 194).

Интестинални карцином се најчешће локализује у антралној регији, потом на малој кривини, а рјеђе у осталим дијеловима желуца. Овај тип карцинома има бољу прогнозу од дифузног типа и за разлику од дифузног најчешће даје метастазе у јетру, док дифузни тип карцинома метастазира у перитонеум и у мезентеријум (24).

2.5.5.5. Дифузни карцином желуца

Дифузни тип карцинома желуца није дефинисан по хистогенези, попут интестиналног типа, већ на основу начина раста. По Lauren-у дифузном типу припада 33% од свих карцинома желуца (183). Обично не настаје на терену атрофичног гастритиса, чешће се јавља у женској популацији и у млађим старосним групама, са просјечном старошћу болесника од 47,4 године. Постоје извјештаји који овај тип карцинома повезују са особама крвне групе А (2).

На основу макроскопског начина раста припадају типу III и IV по Vormannu. Linitis plastica као начин раста има 43% карцинома дифузног типа. Макроскопске промјене обично почињу у препилоричној зони, затим настаје опструкција пилоруса са посљедичним задебљањем зида желуца и повећаном ригидношћу. На резној површини зида желуца запажа се изражена субмукозна фиброза са улцерацијама на слузокожи, које могу, али и не морају бити присутне (3, 24).

Дифузни тип карцинома микроскопски по Lauren-у личи на signet ring карциноме по WHO класификацији. Састоји се од слабо кохезивних ћелија које дифузно инфилтришу желудачни зид. Овај тип има слабу диференцијацију и састоји се из накупина ситних релативно униформних ћелија и ћелија попут „прстена печатњака“. Ћелије су међу собом повезане екстензивном фиброзом и придруженом инфламацијом (195). На основу хистолошког обрасца раста описано је 5 субтипова signet ring cell carcinoma:

- 1) класичан signet ring тип са једрима на периферији цитоплазме у којој се налазе кисели муцини;
- 2) тип грађен од ћелија које подсећају на хистиоците, имају централно постављена једра и ниску митотску активност;
- 3) тип сачињен од ситних ћелија са еозинофилном цитоплазмом и проминентним цитоплазматским гранулама које садрже неутралне муцине;
- 4) тип грађен од ситних ћелија са малом количином муцина и
- 5) тип крађен од анапластичних ћелија које имају мало или уопште не садрже муцине (2, 177).

Дифузни тип карцинома се шири локално кроз субмукозу и лимфогено а честе су и интраперитонеалне метастазе и метастазе у мезентеријуму (3, 24).

2.5.5.6. TNM класификација карцинома желуца

Чак седам ревизија је претрпела TNM класификација карцинома желуца из 2000-те год. и напослетку 2010. год је објављена модификована TNM класификација у којој је, осим преоперативних података укључена и интраоперативна процјена хирурга. Обзиром да преоперативно одређивање TNM стадијума није лако, најновија TNM класификација је заснована како на преоперативном клиничком налазу, тако и на оперативном налазу, уз детаљну патохистолошку анализу ресекваног желуца (2).

Табела 2. TNM класификација карцинома желуца

TNM класификација карцинома желуца, UICC, 7 ревизија, 2010 (IARC, Lyon, 2010)
T – примарни тумор
T _x - примарни тумор не може бити процијењен T ₀ - примарни тумор није нађен T _{is} - карцином “ <i>in situ</i> ”, интраепителни тумор без инвазије ламине проприје, висок степен дисплазије T ₁ - тумор инвадира ламину проприју, мускуларис мукозу или субмукозу T _{1a} - тумор инвадира ламину проприју или мускуларис мукозу T _{1b} - тумор инвадира субмукозу T ₂ - тумор инвадира мускуларис проприју T ₃ - тумор инвадира субсерозу (раније T _{2b}) T ₄ - тумор пробија серозу или врши инвазију околних органа или структура* T _{4a} - тумор пробио серозу (висцерални перитонеум) (раније T ₃) T _{4b} - тумор захвата околне органе или структуре*
N- регионални лимфни нодуси
N _x - регионални лимфни нодуси не могу бити процијењени N ₀ - нема метастаза у регионалним лимфним нодусима N ₁ - метастазе у 1 до 2 регионална лимфна нодуса (раније 1 до 6) N ₂ - метастазе у 3 до 6 регионална лимфна нодуса (раније 7 до 15) N ₃ - метастазе у 7 и више регионалних лимфних нодуса N _{3a} - метастазе у 7 до 15 регионалних лимфних чворова N _{3b} - метастазе у 16 или више регионалних лимфних нодуса
M - удаљене метастазе
M ₀ - нема удаљених метастаза M ₁ - постоје удаљене метастазе

*Околне структуре за желудац су: слезина, трансверзални колон, јетра, дијафрагма, панкреас, абдоминални зид, надбубрежне жлијезде, бубрези, танко цријево и ретроперитонеум. Тумор који се шири на гастроколични или гастрохепатични лигамент и на велики или мали оментум, без пробијања висцералног перитонеума (серозе) је T₃.

Као што се запажа, у седмој ревизији хистолошке класификације, постоје важне промјене у Т и N категорији. Прво, ранија T₂₆ категорија је замијењена са T₃ категоријом у којој се класификују тумори који су захватили субсерозу. Друго, у T₄ категорију су уведене двије подкатегије, при чему је у првој (T_{4a}) тумор пробио висцерални перитонеум, што је раније класификовано као T₃ категорија. У другој (T_{4b}) подкатегији тумор захвата околне органе или структуре. Ове подкатегије су уведене након што је у бројним студијама утврђено да је пенетрација серозе независан и неповољан прогностички параметар, који је у корелацији са краћим преживљавањем (2, 196). Стадијум узнапредовалог желудачног карцинома, са посебним освртом на ширење у серозу и лимфне нодусе (TNM систем), представља најважнији прогностички индикатор. Петогодишње преживљавање је 60-80% код болесника са инвазијом дубоког мишићног слоја, а 50% када је захваћена и субсероза (196, 197). Уколико је тумор пенетрирао у серозу петогодишње преживљавање износи око 31% (198).

Због великог прогностичког значаја метастаза у лимфним чворовима, практично највећу ревизију је претрпјела N категорија, која по овој класификацији знатно више обавезује на пажљиву анализу лимфних чворова у свјежем или фиксираном узорку будући да N₁ категорија у овој класификацији обухвата депозите у 1 до 2 лимфна чвора, N₂ депозите у 3 до 6 лимфних чворова, а N₃ категорија је подијељена у двије подкатегије, при чему се у N_{3a} подкатегију сврставају тумори са метастатским депозитима у 7 до 15 регионалних лимфних чворова, а N_{3b} подкатегија обухвата туморе са депозитима у 16 или више регионалних лимфних нодуса.

Уколико постоје регионалне метастазе у групама лимфних нодуса 1-6, петогодишње преживљавање је око 35%. Ако су метастазе присутне у лимфним нодусима категорије 7-11 онда само око 16% преживи 5 година. Метастазе у лимфним нодусима 12-16 се сматрају удаљеним метастазама и имају лош утицај на прогнозу (2)

Табела 3. Стадијуми карцинома желуца по TNM класификацији

Стадијуми карцинома желуца по TNM класификацији UICC,7 ревизија, 2010 (<i>IARK, Lyon, 2010</i>)			
Стадијум 0	T _{is}	N ₀	M ₀
Стадијум IA	T ₁	N ₀	M ₀
Стадијум IB	T ₂	N ₀	M ₀
	T ₁	N ₁	M ₀
Стадијум IIA	T ₃	N ₀	M ₀
	T ₂	N ₁	M ₀
	T ₁	N ₂	M ₀
Стадијум IIB	T _{4a}	N ₀	M ₀
	T ₃	N ₁	M ₀
	T ₂	N ₂	M ₀
	T ₁	N ₃	M ₀
Стадијум IIIA	T _{4a}	N ₁	M ₀
	T ₃	N ₂	M ₀
	T ₂	N ₃	M ₀
Стадијум IIIB	T _{4b}	N ₀ ,N ₁	M ₀
	T _{4a}	N ₂	M ₀
	T ₃	N ₃	M ₀
Стадијум IIIC	T _{4a}	N ₃	M ₀
	T _{4b}	N ₂ ,N ₃	M ₀
Стадијум IV	Било који Т	Било који N	M ₁

2.5.6. Дијагноза карцинома желуца

2.5.6.1. Клиничка слика

Велики број пацијената са карциномом желуца се дијагностикује у узнатредовалом стадијуму болести, будући да је симптоматологија овог тумора у почетном стадијуму врло оскудна или маскирана бенигним болестима. Није ријетко да болест протиче асимптоматски

или са неспецифичним симптомима. Најчешћи клинички знаци су бол у епигастријуму, губитак апетита и тјелесне тежине, малаксалост, анемија итд. Најчешћи разлози за одлазак код љекара су осјећај пуноће у епигастријуму и бол који постаје константан. Рана презасићеност, током оброка, указује на инфилтришући тумор који доводи до губитка растегљивости желуца (24). У око 30% пацијента постоји диспепсија која се тешко разликује од хроничног пептичног улкуса. Перзистентно повраћање се јавља код тумора локализованих у антруму који врше опструкцију пилоруса. Дисфагија може указати на тумор у кардији, при чему је у почетку тешко гутање чврсте хране, а касније и кашасте (199). Карцином желуца се може манифестовати дијарејом, односно убрзаном пасажом која настаје усљед отвореног и инфилтрисаног пилоруса (200). На малигни карактер болести указују окултна крвављења која доводе до појаве анемије. Неријетко се код карцинома желуца истиче симптоматологија „три А“ - анорексија, астенија, анемија (24).

Карцином желуца може да метастазира директно у јетру, панкреас, дијафрагму, слезину, попречни колон и др. Поред тога, даје лимфогене метастазе (локалне и удаљене), хематогене метастазе у јетру, плућа, кости, мозак и др., а постоји и перитонеална дисеминација овог тумора (3, 24).

У почетном стадијуму, физикалним прегледом се не наилази на промјене, али у узнапредовалој фази болести, у око половине болесника, може да се палпира тумор у епигастријуму, а понекад могу бити присутни и хепатомегалија, иктерус и асцитес (201). Уколико тумор пробије серозу желуца долази до десквamacије ћелија у слободну трбушну дупљу са имплантацијом и метастатским развојем у оваријуму код жена (Krukenbergov тумор) или између бешике и ректума (Douglas простор) код мушкараца (24). Карцином желуца може метастазирати и у суперфицијалне лимфне нодусе па је потребан пажљив преглед лијеве супраклавикуларне јаме (Virchowlјева метастаза) (201).

2.5.6.2. Клиничка дијагностика

Све док карцином желуца не пређе у узнапредовали стадијум лабораторијска испитивања не упућују на присуство карцинома. Анемија и окултно крварење у столицама могу бити присутни и код хроничних улцерација у дигестивном тракту. Маркери у серуму који се користе за карцином желуца су често позитивни и код желудачног улкуса (24, 102).

Фибергастродуоденоскопија је најпоузданија метода за дијагнозу карцинома желуца која омогућава визуелизацију свих дијелова желуца и трансендоскопску биопсију суспектних промјена (24). Тачност дијагнозе се повећава са бројем узетих биопсија, па је препоручљиво узимање 8 до 10, а минимално 6 биопсија са ивица и базе промјена. Предност ове методе је још и у томе што се њоме може открити карцином желуца у раној фази болести. Сензитивност гастродуоденоскопије се процјењује на око 60 до 70%, али се њена сензитивност повећава са бројем узетих биопсијских узорака (202, 203).

Радиолошки преглед контрастним средством се такође често користи у дијагностици карцинома желуца. Примјеном методе двоструког контраста (контраст и ваздух) омогућена је визуелизација детаља на слузокожи што може помоћи у разликовању карцинома од улкуса, али у око 10% случајева није могуће разликовати бенигни тумор од малигног (3). Предност методе је у томе што има мали проценат компликација, високо је сензитивна и уз то је и јефтина (24).

Интрагастрична (ендоскопска) ултрасонографија је новија техника која са високом прецизношћу од 80% указује на интрамуралну проширеност односно дубину инвазије карцинома. У диференцијацији стадијума T₁ и T₂ ова метода пружа прецизност у 90 – 99%,

што је од велике важности за дијагнозу раног рака желуца. Прецизност ове методе за испитивање статуса лимфних жлезда се процјењује на око 50-80%, али треба истаћи да се ендоскопском ултрасонографијом могу открити само позитивни лимфни нодуси који су већи од 5мм, а познато је да се метастазе карцинома могу наћи и у мањим лимфним чворовима (204, 205).

Компјутеризована томографија (СТ) и магнетна резонанца (MRI) имају велики значај за детекцију метастаза и за преоперативно утврђивање курабилности. СТ је данас опште прихваћен модалитет дијагностике за узнатредовали карцином желуца са сензитивношћу од 65-70% за испитивање стадијума тумора, док се сензитивност за испитивање лимфних чворова процјењује на 40-70% (24, 206). Компјутеризована томографија има велики значај за детекцију удаљених метастаза у плућима, јетри и надбубрегу (24).

Постоје мишљења да је магнетна резонанца незнатно поузданија и сензитивнија од компјутеризоване томографије, међутим њена висока цијена је ограничавајући фактор за рутинску примену ове методе.

Дијагностичка лапароскопија се примјењује уколико постоји сумња на операбилност тумора. Она омогућује директну визуализацију примарног карцинома желуца, а суверена је за откриће малих перитонеалних и јетрених метастаза. Током лапароскопије се могу узети и узорци за биопсијску анализу (24).

2.5.6.3. Хистопатолошка дијагностика

Карцином желуца се у највећем броју случајева завршава ресекцијом тумора или гастректомијом, а оперативни материјал представља важан извор података који су неопходни за даљи третман и праћење пацијента. За хистопатолошку анализу ткивних узорака у употреби су бројне микроморфолошке, хистохемијске и имунохистохемијске дијагностичке процедуре (3, 207).

2.5.6.3.1. Микроморфолошка анализа

За микроморфолошку анализу узорака ткива се најчешће користи рутинска Н&Е (*Hematoxylin-eosin*) метода. Стандарни извјештај анализе ткива садржи информације о хистолошком типу тумора, хистолошкој диференцијацији малигних ћелија, хистолошком градусу тумора, патолошком стадијуму болести, броју метастазама захваћених лимфних чворова, васкуларној инвазији, перинеуралној инвазији, перитуморској лимфоцитној инфилтрацији, хистопатолошку потврду удаљених метастаза и друге прогностичке и предиктивне параметре. Важно је истаћи да се овом методом може добити увид и о стању ресекционих маргина и о конфигурацији туморског рубца (207).

Хистолошки тип тумора нема независан прогностички значај, али изузетак су “signet ring cell” карциноми, који имају неповољну прогнозу (2, 208). У бројним другим извјештајима и мета-анализама је истакнуто да су степен хистолошке диференцијације, дубина туморске инвазије, метастазе у лимфним нодусима и удаљене метастазе независни прогностички фактори у узнатредовалом карциному желуца (157, 209, 210).

Степен хистолошке диферентованости (хистолошки градус тумора) је важан прогностички фактор и независан је од стадијума тумора. Градирање се базира на броју митоза у тумору и на степену сличности туморског ткива са нормалним матичним ткивом, из кога тумор потиче (141). Постоји неколико система градирања, али већина њих желудачне карциноме дијели на три или четири степена диферентованости (211).

- Градус 1 - добро диферентован тип (преко 95% тумора чине жљездане формације)
 - Градус 2 - умјерено диферентован тип (50-90% тумора чине жљездане формације)
 - Градус 3 - слабо диферентован тип (5-49% тумора чине жљездане структуре)
 - Градус 4 - недиферентован тип (мање од 3% тумора чине жљездане формације)
- Signet ring cell карциноми су увијек градус 3 (211).

Локализација и број захваћених лимфних чворова су важан прогностички параметар, јер што је број захваћених лимфних чворова већи то је лошија прогноза за болесника (2). По СЗО класификацији из 2010. год. описује се 16 анатомски различитих локализација регионалних лимфних чворова. Они се комбинују у 4 категорије (N₁, N₂, N_{3a} и N_{3b}), а које су од појединачних лимфних чворова укључени у ове категорије у потпуности зависи од мјеста примарног тумора (212, 213).

2.5.6.3.2. Муцин-хистохемијска анализа

Муцини су сложена макромолекуларна једињења која су састављена од протеина и полисахарида и главна су компонента мукуса, који прије свега има протективну улогу (39). Имају важну улогу у обнављању епитела, ћелијској адхезији, имунолошком одговору и ћелијској сигналној трансдукцији (214, 215). Дијеле се на неутралне, слабо киселе и јако киселе муцине. Муцини са киселим угљенохидратним групама су негативног наелектрисања па се везују за АВ (Alcian blue) и НИД (High Iron Diamine) реагенсе, и зато се ова комбинована хистохемијска метода користи за доказивње киселих муцина. Неутрални муцини се интензивно боје PAS (Periodic acid Schiff) методом. Муцине јаке киселости, са сулфатним групама НИД боји браон до црно, а удружена примјена са АВ омогућује бојење слабо киселих муцина плаво. PAS неутралне муцине боји пурпурно црвено (216).

Током желудачне карциногенезе настају промјене у гликозилацији муцина што се манифестује квалитативном и квантитативном измјеном муцина па је, неријетко, хистохемијска евалуација муцина саставни део хистопатолошке дијагнозе (217, 218).

2.5.6.3.3. Имунотипизација ткива желудачног карцинома

Клинички третман пацијента са желудачним карциномом некада захтијева и дефинисање промјена на молекуларном нивоу које обухвата идентификацију специфичних генских мутација (промјене гена, губитак гена и др.), па је нужно да хистопатолошки извјештај садржи и друге предиктивне и прогностичке параметре повезане са преживљавањем и одговором на терапију. Протеини кодирани од стране различитих гена могу се идентификовати имунохистохемијским методама (219). Молекуларни маркери имају предиктивну вриједност, јер су од помоћи у селекцији пацијената за молекуларну циљну терапију (220). Имунохистохемијски се најчешће испитује експресија муцина, цитокератина, хормонских рецептора, нуклеарног пролиферативног антигена итд.

Већина желудачних карцинома показује експресију муцинских гена, који кодирају полипептидно језгро муцинских макромолекула. За желудац су карактеристични MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC5AB, MUC6. Pinto-de-Sousa и сар. су на основу имунохистохемијских анализа запазили да MUC1 показује експресију углавном код интестиналног типа карцинома желуца, MUC2 код муцинозног карцинома, док се MUC5AC чешће експримира код дифузног типа. Исти аутори су такође уочили да постоји повезаност између експресије муцинских гена и локализације тумора у желуцу и при томе истакли да је експресија MUC5AC чешћа у карциномима антралне локализације, док се у у карциномима кардије чешће експримира MUC2 (221).

Од осталих имуномаркера реактивност гастричног карцинома на кератин има велики диференцијално-дијагностички значај, што нарочито долази до изражаја у случајевима дијагностичке дилеме између дифузног карцинома желуца и лимфома са signet ring like ћелијама и/или са ксантомским грануломатозним гастритисом. Од кератина углавном су присутни кератини ниске молекулске тежине, али се понекад могу наћи и кератини који су обично присутни у сквамозном епителу, као што су СК13 и СК16 (3). Око 70% желудачних карцинома показује експресију СК7, а око 20% њих експримира СК20 (4). У неким желудачним карциномима, прије свега дифузног типа, присутна је коекспресија кератина и виментина (222 - 224). Fujihiro и сар. су туморе са виментинском диференцијацијом нашли чак у 32% дифузних желудачних карцинома (223) и при томе запазили да су карциноми који експримирају виментин изузетно инвазивног фенотипа.

У неким земљама са скрининг програмима за карцином желуца, попут Јапана, као маркер преканцерозних лезија се обавезно користе пепсиноген I и II, чији снижени серумски нивои указују на присуство тешке атрофије или диспластичних промјена у слузокожи (139, 140, 225), али последњих година се експресија овог маркера све чешће одређује у ендоскопски биоптираном ткиву желуца (226).

У око 10-50% желудачних карцинома је присутна експресија HCG-а (227), али није примијећена разлика у хистолошкој грађи ових тумора од оних који немају експресију HCG-а, па овај феномен не треба изједначавати са хориокарциномом, ријетком варијантом желудачног карцинома, који се може јавити као посебан хистопатолошки ентитет или као хистолошка компонента у аденокарциному (228- 230).

У узнапредовалим желудачним карциномима је чак и до 88% случајева присутна експресија епидермалног фактора раста (EGF), што указује на присуство аутокриног механизма раста тумора (231).

Табела 4. Експресија антитијела у желудачном карциному (Dabbs D,2010)

Антитијело	Реактивност	Антитијело	Реактивност
СК18	+ у скоро 100%	Villin	ријетко +
СК (АЕА1/АЕА3)	+ у преко 95%	CD10	епител интестиналне метаплазије
СК7	+ у око 50%, +/- у око 30%	СЕА	+ у високом %
СК20	+ у око 40% +/- у око 20%	ЕМА	+ у високом %
СК7/СК20	+ у око 35%	HepPar 1	high grade и signet ring cell cy +
СК5/6	+ у мање од 10%	MUC2	+ преко 50%
СА-125	ријетко + појединачне	MUC5AC	+ у 38- 70%
CD99	Понекад + (интестиналне неоплазме)	MUC 6	+ у 30-40%
CDX2	Варијабилно+ у 20-90%	S-100	око 20% фокално +

Последњих година се као потенцијалне терапијске мете за карцином желуца истражују хормонски рецептори за естроген (ER), прогестерон (PgR) и лептин (LEPR).

Постоји јака доминација мушког пола у инциденци желудачних карцинома у односу 2:1, која се не може објаснити утицајем познатих фактора ризика. Furukawa и сар. су још прије неколико деценија, у експерименту на пацовима, запазили да естроген има протективну улогу у ткиву желуца (232), а и у опсежним клиничким истраживањима је запажена повећана инциденца карцинома желуца у жена након менопаузе (233). Експресија прогестеронских рецептора је у позитивној корелацији са експресијом естрогених рецептора (234).

Последњу деценију су спроведена бројна истраживања о утицају лептина и лептин рецептора у карциногенези. Лептин је продукт *LEP* гена (*Ob* ген) који је локализован на дужем дијелу хромозома 7p(7q31) (235). Лепин испољава своје дјеловање кроз специфичан рецептор *LEPR* (*ObR*), са мултиплим изоформама од *LEPRa* до *LEPRf*. Експресија лептин рецептора је откривена у многим ткивима при чему је запажено да лептин има стимулативни ефекат на пролиферацију малигнух ћелија тумора различитих локализација, укључујући и карцином желуца (236 - 238). Такође је утврђено да лептин не само да промовише пролиферацију, већ стимулише и инвазивност и миграцију малигнух ћелија (239).

2.5.7. Лијечење, прогноза и превенција карцинома желуца

2.5.7.1. Лијечење

Једини облик успјешне куративне терапије за карцином желуца је хируршка терапија. Циљ савременог хируршког лијечења је одстрањење тумора са сигурним микроскопским границама и одстрањење потенцијално захваћених лимфних чворова (24).

У односу на екстензивност желудачне ресекције могући су различити модалитети. Тотална гастректомија подразумијева тоталну ресекцију желуца која укључује ресекцију кардије и пилоруса. Дистална гастректомија је ресекција желуца која подразумијева ресекцију пилоруса, док је кардија сачувана. У стандардној дисталној гастректомији двије трећине желуца је ресецирано. Пилорус презервирајућа гастректомија је ресекција желуца са презервацијом горње трећине желуца и пилоруса заједно са дијелом антрума. Проксимална гастректомија подразумијева ресекцију и кардије (езофагогастрични спој), док је пилорус презервиран. Сегментна гастректомија или циркумферентна ресекција представља ресекцију желуца са презервацијом кардије и пилоруса (240).

Ендоскопска ресекција се може извести код раних карцинома желуца (Т1а) ако су јасно ограничени на слузокожу, добро диферентовани, без улцерација, величине 2 цм и мањи. Ризик од метастаза у лимфним чворовима у овој групи није доказан. Изводе се два типа ендоскопске ресекције, ендоскопска мукозна ресекција (ЕМР) је прихватљива за лезије мање од 10 – 15 мм са веома малом вјероватноћом узнапредовалог хистолошког налаза. Међутим, смјернице европског удружења ендоскописта (*European Society of Gastrointestinal Endoscopy Guidelines*) препоручују ендоскопску субмукозну дисекцију (ЕСД) као процедуру избора за већину гастричних површних неопластичних лезија (241).

Код Т1 тумора који не испуњавају услове за ендоскопску мукозну дисекцију мора се извести ресекциона процедура. За стадијум карцинома желуца II-III, индикована је радикална гастректомија. Према смјерницама европског удружења онколошких хирурга (ESMO) проксимална маргина од најмање 5 cm препоручује се за туморе интестиналног типа. За дифузне карциноме, маргина од 8 cm је неопходна (242). Уколико је могуће обезбиједити потребну дистанцу приликом ресекционе процедуре, може се урадити субтотална гастректомија. У супротном, индикована је тотална гастректомија. Код ових пацијената препоручује се периоперативна хемиотерапија.

Према смјерницама јапанског удружења за карциноме желуца (*JGCA - Japanese Gastric Cancer Association*) проксимална ресекциона маргина од 3 cm неопходна је за туморе са експанзивним растом и 5 cm за туморе са инфилтративним растом. Када ова правила не могу бити задовољена, препоручљиво је „ex tempore“ испитати проксималну ресекциону маргину. За туморе који захватају једњак, маргина ресекције већа од 5 cm није неопходна, већ „ex tempore“ испитивање како би се обезбиједила R0 ресекција. За туморе Т1, ресекциона маргина треба износити 2cm (240).

Уколико није могуће приликом ресекције направити неопходну дистанцу, а чак и у случају да задовољавајућа маргина проксималне ресекције може бити добијена, инвазија панкреаса тумором код које је неопходна ресекција панкреаса и спленектомија, захтијева тоталну гастректомију, без обзира на локализацију тумора. Тотална гастректомија са спленектомијом ради се код тумора који се налазе на великој кривини желуца (240).

Постоји константна дилема око дисекције која прати радикалну гастректомију. D1 дисекција подразумијева уклањање перигастричних лимфних чворова, D2 подразумијева

уклањање перигастричних лимфних чворова плус оних дуж лијевог желуца, заједничке артерије јетре, слезинске и целијачне артерије. Дисекција лимфних чворова за туморе T1 може бити ограничена на перигастричне лимфне чворове која укључује и локалне N2 лимфне чворове (D1+) (242).

Амерички комитет за карциноме (AJCC) препоручује ексцизију најмање 15 лимфних нодуса који омогућавају поуздано одређивање стадијума болести. У западним земљама, у пацијената доброг општег стања препоручена је D2 дисекција која се спроводи у специјализованим центрима великог обима са одговарајућом хируршком експертизом и постоперативном његом (242). Према јапанском удружењу D2 лимфаденектомија је индикована за N+ или \geq T2 туморе и D1 или D1+ за T1N0 туморе. Међутим, пре и интраоперативна дијагноза дубине инвазије тумора остаје неопуздана, према томе D2 лимфаденектомију треба урадити кад год је то могуће (240, 245). Лапароскопска хирургија има потенцијалну корист од смањења постоперативног морбидитета и бржег постоперативног опоравка, ако се изводи у високо специјализованим центрима од стране обучених ендоскопских хирурга (201, 244, 245).

Хемо- и радиотерапија се нису показале ефикасним у примарном лијечењу карцинома желуца, али се у Јапану хемотерапија сматра стандардом и са њом се започиње током постоперативног периода или се апликује као преоперативна неoadјувантна терапија чиме се смањује узнапредовалост тумора (244, 245). Последњих година се у комбинацији са хируршком терапијом спроводи и молекуларна циљна терапија карцинома желуца (219, 220).

2.5.7.2. Прогноза карцинома желуца

Прогноза карцинома желуца је још увијек незадовољавајућа, а стопа преживљавања је боља у Јапану и Енглеској него у САД. На прогнозу желудачног карцинома утичу бројни фактори, од којих се најчешће истичу старосно доба, стадијум тумора, локализација у желуцу, величина тумора, хистолошки тип и градус, дубина захватања зида желуца, однос паренхима и строме, перинеурална инвазија, захваћеност лимфних чворова, хируршке ивице, тип операције, целуларна пролиферација (Ki67, PCNA), експресија p53 и p27, катеписини и др. (3) .

Старосно доба пацијента. Уопште је познато да млађе особе не схватају озбиљно симптоме, попут старијих пацијената, са једне стране, а затим у млађих особа се чешће јављају слабо кохезивни карциноми (signet ring cell тип), са традиционално лошом прогнозом (6).

Стадијум тумора један од најважнијих независних прогностичких фактора, који укључује дубину инвазије и статус лимфних чворова. Познато је да рани карцином желуца има ниску инциденцу лимфоваскуларне инвазије и инвазије лимфних чворова, па око 90% болесника преживи 10 год, што је значајно боље од прогнозе узнапредовалог карцинома (156, 157, 177).

Дубина инвазије је значајно повезана са преживљавањем. Код тумора који се у вријеме дијагнозе налазе у серози прогноза зависи и од површине захваћеног дијела серозе (246). Постоје саопштења по којима је дубина инвазије у корелацији са макроскопским обликом тумора тако да полипоидни тип који расте у лумен желуца има значајно нижу инциденцу метастаза, за разлику од инфилтративног типа који ураста у зид желуца (247).

Локализација тумора у желуцу. Најчешћа локализација (20-60%) карцинома желуца је кардија. Тумори ове локализације, за сваки стадијум болести, имају значајно лошију

прогнозу у поређењу са карциномима дисталне локализације (248). Недавна истраживања Zheng-а и сар. су показала да су значајно најкраће вријеме преживљавања имали пацијенти са кардијалном локализацијом тумора, гдје је петогодишње преживљавање констатовано у 29% случајева (249).

Величина тумора је уско повезана са дубином инфилтративног раста, тако да тумори мањих димензија имају значајно бољу прогнозу (250). Хи и сар. су показали да је величина тумора независтан прогностички фактор за преживљавање пацијената без присуства метастаза у лимфним чворовима (251).

Хистолошки тип тумора је важан прогностички фактор који детерминише опсег хируршке ресекције и чини основу за прављење хируршког плана (252). Сматра се да интестинални хистолошки тип (по Lauren-овој класификацији) има значајно бољу прогнозу од дифузног типа (253). Прогноза пацијената са слабо кохезивним карциномима је посебно лоша код дјеце и млађих одраслих (254).

Захваћеност лимфних чворова. Уколико су, након детаљне хистопатолошке анализе, регионални лимфни чворови негативни, очекује се да преко 50% пацијената преживи 5 година и више. Показано је да постоји повезаност између величине тумора и броја захваћених лимфних чворова. Постоји сагласност у литератури да је дужина преживљавања у позитивној корелацији са бројем захваћених лимфних чворова по UICC, (7 ревизија из 2010). Доказано је да је петогодишње преживљавање било мање од 30% уколико је тумор захватио више од 6 лимфних чворова. (2, 255).

Тип операције. Запажено је да је преживљавање боље код куративне ресекције, у односу на палијативну ресекцију и код дисталне гастректомије у односу на проксималну (246, 250). Извјештаји јапанских аутора указују на значајно боље преживљавање пацијената код којих је рађена проширена лимфаденектомија (256, 257). У другим студијама холандских аутора је запажено да су пацијенти са D₂ лимфаденектомијом имали значајно веће стопе морталитета од пацијената са D₁ лимфаденектомијом (10%:4%), док су стопе једанаестогодишњег преживљавања биле сличне (35%:30%) (258). Ретроспективне студије Di Martino-а и сар. су показале значајно веће петогодишње преживљавање у пацијената са D₂ лимфаденектомијом (43,5%) у поређењу са пацијентима са D₁ лимфаденектомијом (0% за 6 месеци) и D₃–D₄ групе пацијената код којих је пет година преживјело 29,5% болесника (259).

Други прогностички фактори. На прогнозу карцинома желуца утиче и пролиферативна активност тумора, експресија муцина, експресија p53, p27, E-cadherina, HER-2 и др. (260, 261, 262).

2.5.7.3. Превенција карцинома желуца

Превенција карцинома желуца може бити примарна или секундарна. Примарна превенција обухвата идентификацију генетских, биолошких и фактора околине који могу бити етиопатогенетски повезани са развојем тумора. Циљ секундарне превенције је идентификација постојећих пренеопластичних и раних неопластичних лезија у циљу њиховог правовременог третмана.

Многе студије и мета анализе показују да је храна богата сировим поврћем, воћем, витаминима А и С повезана са ниским ризиком за настанак карцинома желуца. Запажено је да је, у популацији која конзумира велике количине воћа и поврћа, за 30-50% смањен ризик од настанка карцинома желуца. Аскорбинска киселина и бета каротен који се налазе у свјежем воћу и поврћу дјелују као антиоксиданси. Калцијум, витамин А и витамин С су

протективни чиниоци желудачне слузнице, јер могу спријечити конверзију нитрита у Н-нитрозамине. Познато је да је концентрација витамина С смањена у болесника инфицираних са *Helicobacter pylori* (263, 264, 265).

Смањење инциденце карцинома желуца у неким земљама се објашњава и све масовнијим коришћењем фрижидера, а самим тим је смањена и количина нитрата у храни, у поређењу са високом концентрацијом у храни која се чува на собној температури. Даље, у већини западних земаља је поштрена санитарна контрола којом се забрањује примјена карциногенних супстанци у производњи и чувању хране. Удјела у овоме има и побољшање хигијенских услова у припреми хране (76).

Скрининг (енгл. screening) представља процес идентификације наизглед здравих људи који имају евидентне факторе ризика за настанак и оболијевање од одређене болести. На тај начин, када се болест идентификује и третира у раној фази, смањује се стопа морбидитета и морталитета и врши значајна уштеда средстава која су потребна за лијечење пацијената у одмаклим фазама болести. С обзиром да се карцином желуца по учесталости налази на четвртом мјесту, његово рано откривање је од изузетног клиничког и социоекономског значаја. Сврха скрининга желудачног карцинома је откривање раних асимптоматских карцинома, као и преканцерозних промјена, прије свега унапредовале хистологије, чијим би се уклањањем превенирао настанак карцинома (53, 266).

Спровођење скрининг програма у земљама високог ризика је резултовало падом морталитета, који је достигао ниво морталитета у западним развијеним земљама. Тако је, у Јапану, гдје се досљедно спроводи масовни скрининг, стопа морталитета пала за више од пола у односу на седамдесете године прошлог вијека, а стопа петогодишњег преживљавања за карцином који је ограничен на мукозу износи око 95% (54, 266).

2.6. Биомаркери за карцином желуца

Све супстанце које продукује сам тумор или су производи метаболичког процеса удруженог са тумором у организму, називају се туморским биомаркерима (267). Термин биомаркер означава биолошки параметар који се може мјерити, квантификовати (нпр. концентрација ензима и хормона или фенотипска дистрибуција одређеног гена) и који служи за процјену присуства и/или прогресије болести. На основу дефиниције Америчког националног здравственог института биомаркер је карактеристика која се објективно може мјерити и који представља индикатор физиопатолошког стања и фармаколошког одговора на терапију (268). Дobar биомаркер би требало да се стално мијења са нивоом активности и степеном прогресије болести, затим би требало да буде лако мјерљив и неинвазиван (269).

У односу на примјену, биомаркери се могу поделити на:

- 1) антецедентне маркере, који указују на ризик од настанка болести;
- 2) screening маркере, којима се утврђује субклиничка форма болести или прекурсорне лезије карцинома;
- 3) дијагностичке маркере, који откривају постојећу болест;
- 4) „staging“ маркере, који дефинишу стадијум и тежину болести и
- 5) прогностичке маркере, који потврђују ток болести и одговор на терапију (268).

Дobar биомаркер ће бити клинички употребљив и значајан уколико у више мјерења покаже тачност, уколико је прихватљив за болесника и љекарима једноставан за тумачење. Веома важно је да маркер буде високо специфичан и сензитиван за исход који се прати.

Осим наведеног за скрининг маркере је важно да не захтијевају високе финансијске трошкове (270).

Данас је познато преко неколико стотина туморских маркера који могу имати прогностички и предиктивни значај, али ипак већина њих се првенствено користи за праћење антитуморске терапије. За сада ограничен број маркера може бити користан у раној дијагностици малигног тумора или у праћењу еволуције преканцерозних лезија (267).

2.6.1. Stathmin 1

Stathmin 1 је један од микротубуларних регулаторних протеина, који игра кључну улогу у процесу митозе кроз регулацију динамике микротубула, при чему је истакнут његов значај у монтажи и демонтажи диобног вретена (271, 272).

Statmin-протеинска фамилија обухвата: Stathmin 1 (STMN1, *onkoprotein 18/Op18, metablastin*), Stathmin-like 2 (STMN2, *superior cervical ganglion-10 protein*), Stathmin-like 3 (STMN3, *superior cervical ganglion-10-like protein*) и Stathmin-like 4 (STMN4, *RaB-GAP related protein 3*) (273, 274).

Механизми којима Stathmin 1 регулише микротубуле још увијек нису сасвим дефинисани, али се зна да Stathmin 1 може да повеже два неполимеризована хетеродимера тубулина и тако формира терцијарни Stathmin 1–тубулин комплекс. Ова тубулин-секвестрирајућа активност Stathmina 1 спречава раст микротубула тако што смањује интрацелуларне залихе тубулина који је доступан за полимеризацију. Тако Stathmin 1, спречавајући полимеризацију тубулин хетеродимера, промовише деполимеризацију микротубула и ремети њихову динамику (271).

Високи нивои експресије Stathmin 1 су повезани са лошом прогнозом различитих малигнух тумора укључујући карцином дојке (275, 276), карцином простате (277), малигни мезотелиом (278), цервикални карцином (279), езофагеални сквамозни карцином (280) и др. Његова експресија у канцерским ћелијама је повезана са њиховом пролиферацијом и метастазирањем (272). У зависности од стадијума фосфорилације, која је посредована p34cdc2 киназом, митоген-активираним протеин киназом и другим киназама, Statmin 1 може да регулише ћелијски циклус преко модулације диобног вретена (271, 272).

Неколико извјештаја у литератури је демонстрирало утицај Stathmina 1 на миграцију ћелија у *in vitro* условима. Такође је запажено да је Stathmin 1 прекомјерно експримиран у метастатским у односу на клинички локализоване карциноме простате, хепатокарциноме, узнапредовале карциноме дојке и рекурентне саркоме. Ови резултати сугеришу да повећана експресија и активност Stathmina 1 стимулише миграцију ћелија *in vivo* у хуманим карциномима (281 - 283).

Изражена експресија Stathmina 1 је саопштена у болесника са акутном леукемијом, али је запажена значајно већа експресија у пацијената са релапсом него у оних са „*de novo*“ болешћу. Исти аутори су нашли и сигнификантно ниску експресију овог протеина у пацијената са комплетном ремисијом и истакли да је Stathmina 1 прихватљив биолошки маркер за процјену минималних резидуа болести. Такође није нађена сигнификантна разлика у експресији Stathmina 1 између мијелоидне и лимфатичне леукемије (284).

О значају Stathmina 1 у желудачној карциногенези постоје само спорадични извјештаји у литератури. Jeon и сар. су први 2010. извјестили да је ниво експресије Stathmina 1 значајно већи у групи пацијената са дифузним карциномом желуца и метастазама у лимфним чворовима и васкуларном инвазијом него у групи са карциномом без метастаза у лимфним чворовима и без васкуларне инвазије. Ниво експресије Stathmina 1 је такође био значајно већи у групи са узнапредовалим карциномом желуца него у групи са карциномом

раног стадијума. Исти аутори су потврдили да пад експресије Stathmina 1 значајно редукује пролиферацију и миграцију ћелија карцинома желуца. Прогностички значај експресије Stathmina 1 у дифузном типу карцинома желуца је потврђен и у анализама преживљавања од стране истих аутора (274).

2.6.2. Пролиферативни Ki67 антиген

Код тумора је често потребно одредити пролиферативни потенцијал самих неопластичних ћелија. Пролиферација се може мјерити примјеном имунохистохемијске методе којом се утврђује имунореактивност на нуклеарне антигене везане за ћелијски раст и диобу. Из пролиферишућих ћелија је изолован антиген на који су направљена антителијела. Најпознатија антителијела која служе за евалуацију пролиферативне активности су bromodeoxyuridin (BdU_r), Ki67 и PCNA (285).

Прво моноклонско антителијело IgG1 класе на нуклеарни антиген пролиферишућих ћелија је направљено имунизацијом миша са ћелијском линијом L428 Hodgkin-овог лимфома и названо Ki67 антителијело, по граду свог поријекла - Kiel (Њемачка) и броју оригиналних клонова. Антиген који се открива овим антителијелом је присутан у једрима ћелија током касне G₁, S, G₂ и M фазе ћелијског циклуса. Антиген се не може детектовати у G₀ фази (286). Друго моноклонско антителијело које идентификује епитопе Ki67 је MIB-1 (287).

Ki67 је протеин молекуларне масе од око 395 kDa, који је у хуманом геному кодиран са око 30000 парова база. Током митозе он подлијеже процесима фосфорилације и дефосфорилације, док се његова количина регулише протеолитичким путевима, тако да његов полуживот траје 60-90 минута (288, 289, 290). За протеин Ki67 се сматра да посједује специфичан образац локализације у једру, који се мијења током ћелијског циклуса. Такође се зна да је протеин Ki67 удружен са густом фибриларном компонентом (DFC - *Dense Fibrillary Compartment*) нуклеолуса. DFC представља један од три кључна региона у нуклеолусу, који се састоје од једарних протеина. Постоји претпоставка да су ови протеини неопходни за продукцију рибозома и да се та функција одвија у нуклеолусу (291). MacCallum и Hall су указали на структурну улогу протеина Ki67 у нуклеолусу и истакли његову способност да интерреагује са другим протеинима, да се везује за RNK и DNK и да представља есенцијални фактор у процесу синтезе рибозома током дијељења ћелије (292).

Имунохистохемијска експресија Ki67 је вриједан маркер за диференцијацију бенигну од малигну тумора, при чему митотска активност код бенигну тумора обично изостаје или је врло ниска, док је код малигну она врло висока и у корелацији је са степеном прогресије тумора (286). Током посљедње деценије појавио се прилично велики број проспективних студија које су испитивале експресију Ki67 и клиничке исходе различитих болести укључујући и туморе. На примјер, код карцинома дојке већина студија показује јаку, статистички значајну корелацију са клиничким исходима, како у униваријантним, тако и у мултиваријантним анализама (293, 294). У карциному желуца такође постоји високо сигнификантна корелација експресије Ki67 са клиничко-патолошким прогностичким параметрима, а при томе група грчких хирурга истиче да Ki67, осим што даје значајне информације о прогнози карцинома желуца, може бити корисно средство у идентификацији пацијената са агресивнијим током болести и тако допринесе бољем терапијском приступу (295).

2.6.3. Адхезиони молекули и E-cadherin (Увомодулин)

Формирајући ткива ћелије су у међусобној вези преко специјализованих дијелова плазмине мембране названих интрацелуларне спојнице. За интегритет ткива су значајне и везе ћелија са екстрацелуларним матриксом које се остварују преко спојница ћелија-матрикс (296).

У односу на функцију ћелијске спојнице се дијеле на три групе:

1) тијесне спојнице, грађене од трансмембранских протеина и плазмине мембране сусједних ћелија и између њих не постоји интерцелуларни простор;

2) сидришне спојнице, које везују цитоскелет једне ћелије са цитоскелетом сусједних ћелија или са матриксом и

3) адхерентне спојнице, које везују снопове актина између ћелија или између ћелија и матрикса. У епителним ћелијама оне чине адхезиони појас који се налази близу врха ћелије и чине га молекули кадхерина. Спој филамената са матриксом се остварује преко друге групе адхезионих протеина који се називају интегрини (297).

Ћелијска адхезија може бити хомотропна када постоји међусобно повезивање ћелија исте врсте (нпр. тромбоцити током стварања тромба) и хетеротропна када се повезују ћелије различите врсте (нпр. неутрофили са ендотелом). Адхезиони молекули се дијеле на кадхерине, селектине, интегрине, CD44 и адхезионе молекуле из породице имуноглобулина (*IgSF-immunoglobulin gene superfamily*) (297, 298, 299).

Кадхерини (*cadherins*) су фамилија хомологних гликопротеина који обављају Ca^{++} зависну интерцелуларну адхезију на мјестима међућелијских спојева. То су гликопротеински рецептори молекулске масе од 120-140 kD, које експримирају све ћелије које формирају ткива. Сви кадхерини се састоје од великог екстрацелуларног домена (N-терминал), трансмембранског региона и кратког цитоплазматског репа (C-терминал). На дугачком екстрацелуларном дијелу налазе се мјеста где се везује Ca^{++} , а на унутрашњем цитоплазматском дијелу припајају се α и β катенини (*catenins*) помоћу којих су кадхерини повезани са цитоскелетом ћелије (299, 300).

Постоје 4 субкласе класичних кадхерина: E (епителни), P (плацентални), N (нервни) кадхерин и L-CAM (*liver celladhesion molecule*). Посебну групу кадхерина, различитих по структури и функцији од класичних, чине дезмозомални кадхерини, који се експримирају на дезмозомима (299).

Кадхерини учествују у неким процесима ембриогенезе, а укључени су и у малигну трансформацију ћелија, у току које настаје редукција њихове експресије. Доказано је да кадхерини коче инвазију и сматра се да имају улогу у активацији процеса дисеминације туморских ћелија (300).

Најбоље проучен кадхерин је E-cadherin или увомодулин који се налази у зонули адхеренс зрелих епителних ћелија гдје повезује актинске филаменте сусједних ћелија. E-cadherin је пептид, молекулске масе од 120 kD, а кодиран је геном 16q22.1 који је организован у 16 егзонских секвенци (301, 302).

У бројним извештајима је показано да је E-cadherin супресор туморске инвазије и метастазирања. Услјед губитка E-cadherin молекула настаје поремећај структуре цитоскелета, омогућено је одвајање ћелија од тумора и њихово амебоидно кретање, тако да се повећава мотилитет ћелија (300, 301).

Редукована експресија или одсуство E-cadherin-a је нађено у туморима дојке (303), јајника (304), мокраћне бешике (305), простате (306), плућа (307), колоне (308), желуца (309) и у бројним туморима главе и врата (310). У литератури постоји усаглашен став да је

експресија E-cadherin-a у инверзном односу са прогностичким параметрима (дубина инвазије, васкуларна инвазија, инвазија лимфатика, метастазе у лимфним чворовима) карцинома желуца. Такође се сугерише да је редукована експресија овог протеина у корелацији са слабом диференцијацијом и лошом прогнозом (309, 311, 312, 313).

2.6.4. Тумор супресор TP53 ген

Тумор супресор TP53 ген идентификован је 1979. год, али је пажњу истраживача почео да привлачи тек 1989. год. када су први пут описане алтерације овог гена у хуманим карциномима (314, 315). Код човјека TP53 ген је локализован на кратком краку хромозома 17 (17p13.1). Ген је експримиран у свим ћелијама тијела, али у већини ткива на врло ниском нивоу. Ген је организован у 11 егзонских секвенци које кодирају синтезу хуманог p53 протеина, сачињеног од 393 аминокиселине (315). Протеин p53 је први пут откривен као компонента SV40 (simian virus 40) у ћелијама трансформисаним овим вирусом (316). Касније је p53 нађен у различитим мишјим ћелијским линијама, у култивисаним хуманим туморским ћелијама и у мишјим туморима индукованим хемијски, радијацијом или вирусима (317, 318). Постоји *Wild* тип (нормалан облик) и мутирани тип p53. *Wild* тип има тумор-супресорске карактеристике, за разлику од мутираног типа (319).

Протеин p53 је мултифункционални протеин. Једна од његових бројних улога је да врши транскрипцију тако што се тетрамер p53 веже за DNK, при чему овај протеин регулише транскрипцију више гена који су одговорни за репликацију DNK. Гени које активира p53 су WAF1 (контролише ћелијски циклус), MDM2 (контролише апоптозу) и Cyclin G, а они које инхибише су Muc i Bcl-2 (320).

Заустављање раста које је условљено активацијом p53 близу рестрикционе тачке у касној G фази диобе је удружено са смањењем транскрипције гена који су укључени у репликацију DNK и ћелијску пролиферацију (321). Друга важна улога p53 је описана као „чувар генома“ и огледа се у заустављању репликације оштећене DNK. Нормалне ћелије са оштећеном DNK се задржавају на контролној тачки, на прелазу G у S фазу ћелијског циклуса. Тада се p53 акумулира, зауставља репликацију оштећене DNK и деобу ћелије за време док се DNK не репарише. Уколико су репарациони механизми неуспјешни, p53 активира апоптотични одговор и коначан резултат је смрт ћелије. Међутим, ако су ћелије изгубиле ген TP53 или садрже његову мутантну форму, ћелије неће бити задржане на контролној тачки, него репликују лезију на DNK и она се преноси на ћерке ћелије, које могу имати предност у преживљавању у односу на нормалне ћелије. Овакве ћелије су генетски нестабилне, па акумулирају мутације доводећи до генерисања малигног стања које се још потенцира, што се види кроз прогресију тумора (322, 323).

Да од гена TP53 зависи одговор ћелије на оштећење, потврђује чињеница да ћелије код којих је овај ген мутиран не одговарају адекватно на дефекте DNK. За механизме инактивације тумор супресорних гена одговорне су тачкасте мутације, делеције и епигенетска инактивација гена (319). Соматске мутације гена TP53 су најфреквентније генске мутације у хуманим карциномима и процијењено је да се да њихова учесталост креће од 5-70% у зависности од типа и стадијума тумора (324). Постоје подаци да је, у литератури, од 1989. год. објављено преко 2700 радова који су описали више од 35000 TP53 мутација (325, 326). Мутирани TP53 ген мијења структуру и функцију енкодираног протеина и иницира процес онкогенезе. Резултати истраживања Busutil-a и сар. указују да се мутације TP53 гена у желудачној карциногенези дешавају касно и доприносе коначном преласку у карцином (320).

Регулаторни протеин p53 има једарну локализацију, која је значајна за његову функцију, али у неким хуманим карциномима дефект функције p53 је последица његовог задржавања у цитоплазми због неспособности да се транслоцира у једро ћелије. Мутације или делеције p53 које су нађене у многим туморима спречавају процес апоптозе, а малигне ћелије постају резистентне на хемо- и радиотерапију (327).

Wild p53 (нормалан тип) је експримиран у нормалном ткиву, али га због кратког полувремена није могуће имунохистохемијски доказати. Међутим, измијењен p53, било услед мутације TP53 гена или адхезије са другим ћелијским или вирусним протеинима, дуго опстаје стабилан и присутан у довољној количини која омогућава његову имунохистохемијску детекцију (319).

Експресија p53 је показана у многим малигним туморима, али су извјештаји о прогностичком значају експресије овог протеина прилично неусаглашени. Сматра се да су за хетерогеност ових резултата, осим варијација у методологији за детекцију овог протеина, одговорни и други фактори попут различитих поступака припреме ткива.

Опсежна мета-анализа која је обухватила 6599 пацијената са карциномом желуца из 34 студије је показала да су високи нивои експресије p53 значајно повезани са полом пацијената, са Лауен-овом класификацијом, дубином инвазије, метастазама у лимфним чворовима, TNM стадијумом, васкуларном инвазијом и инвазијом лимфатика. Експресија p53 није у корелацији са типом тумора по Vormannu, са степеном диференцијације и са удаљеним метастазама. Резултати ове студије такође показују сигнификантну корелацију високе експресије p53 са слабијим преживљавањем (328).

2.6.5. Bcl-2 онкопротеин

Bcl-2 је главни антиапоптотични ген и нормално је лоциран на 18q21 трећег хромозома. Он регулише синтезу истоименог протеина од 26kD, који има круцијални значај за инхибицију процеса програмиране ћелијске смрти (апоптозе). Апоптоза има улогу у ембрионалном развоју, у ремоделирању адултног ткива и у регулацији имуног одговора. Представља важан регулаторни механизам ткивне хомеостазе која зависи од равнотеже између пролиферације и смрти ћелије. Дисрегулација апоптозе има улогу у патогенези различитих болести укључујући и развој малигнух тумора (141, 329).

Bcl-2 фамилија протеина има једну од најважнијих улога у ефекторној фази апоптозе. У већини случајева програмиране ћелијске смрти, Bcl-2 доноси одлуку да ли ће ћелија преживјети или ући у апоптозу (329). Bcl-2 протеини се дијеле на про- и анти-апоптотичне чланове, који се осим по структурним карактеристикама разликују и по нивоу експресије у ткивима. Анти-апоптотски чланови фамилије Bcl-2 су: Bcl-x1, Mcl-1 и Mfl-1, док су про-апоптотски чланови Bcl-xs, Bax, Bad, Biva i Bid. Код људи је идентификовано око 20 чланова Bcl-2 генске фамилије. Неки чланови Bcl-2 фамилије су експримирани у свим ткивима организма (Bcl-2 и Bcl-xs), док је експресија других ограничена на једно или неколико ткива (Bax, Biva) (329, 330). Bcl-2, Bcl-x1 и Bax су протеини присутни у митохондријалним мембранама, мембранама ендоплазматског ретикулума и једарној мембрани. Митохондрија-зависан пут за апоптозу је покривен Bcl-2 протеинском фамилијом (285).

Bcl-2 протеини могу формирати хомо- и хетеро-димере, што значи да је дио њихове активности регулисан протеин-протеин интеракцијом. Овај протеин заједно са Bax протеином регулише ослобађање цитохрома C из митохондрија. Транслокација Bax-а у митохондрије је повезана са ослобађањем цитохрома C и губитком потенцијала

митохондријалне мембране. Цитохром С активира каспазу 3 и ћелија улази у протеолизу. Проапоптотска активност Вах-а може бити модулирана коекспресијом анти-апоптотског Bcl-2 који може блокирати транслокацију Вах-а у митохондрије током апоптозе (331).

Процес апоптозе је под строгим контролом (програмиран) и може се активирати разним окидачима. Неуспјех апоптозе доводи до смањења нормалног процеса ремоделирања ткива и до патолошке акумулације ћелија, што води ка развоју хиперплазије и неоплазије. Прекомјерна експресија Bcl-2 протеина блокира апоптозу чиме се ремети равнотежа ћелијског преживљавања и условљава абнормални раст тумора (332).

Процес сигнала којима се активира апоптоза може бити инициран на два начина:

1) оштећењем митохондрија уз ослобађање апоптотичких протеина, посебно цитохрома С

2) активацијом рецептора смрти-Fas и FasL 8. Оба ова пута доводе до активације каспаза, ензима из групе цистеин протеаза, који су цитосолни протеини и који су најодговорнији за биохемијске и морфолошке промјене у апоптози. У процесу ћелијског самоуништења каспазе инактивирају протеине који спречавају апоптозу или инактивирају протеине који учествују у репарацији DNA (136).

Експресија Bcl-2 је идентификована у око 70% карцинома при чему је запажено да је његова експресија у обрнутој корелацији са апоптотичним индексом и са бољом прогнозом. Експресија Bcl-2 је присутна у око 25% карцинома простате и у позитивној је корелацији са степеном диференцијације тумора. Код карцинома штитасте жлезде постоји удруженост између експресије Bcl-2 и папиларног карцинома, али не и са другим хистолошким типовима (285).

Код колоректалног карцинома је запажено да је експресија Bcl-2 значајно повишена у односу на околно нетуморско ткиво, али је истовремено значајно слабије изражена него код аденома (333,334).

У литератури су подаци о експресији Bcl-2 у желудачном карциному оскудни и у исти мах неусаглашени. Док једни аутори сматрају да је губитак експресије Bcl-2 предиктор лошег клиничког исхода желудачног карцинома (8,9), дотле су Ayed и сар. нашли да је повећана експресија Bcl-2 у корелацији са дубином инвазије и истакли да је експресија у корелацији са агресивним фенотипом и лошом прогнозом (9), а Yawata и сар. показали да је прекомјерна експресија удружена са перитонеалном дисеминацијом желудачног карцинома и указали на прогностичну улогу Bcl-2 (332).

3. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Основни циљ ове студије је испитивање утицаја експресије Stathmina 1 на адхезионе молекуле, пролиферацију и апоптозу у интестиналном и дифузном карциному желуца. У складу са овим поставили смо сљедеће циљеве истраживања:

1. Испитивање дистрибуције интестиналног и дифузног карцинома желуца у односу на демографске и карактеристике испитаника (старост и пол) и у односу на стадијум по TNM класификацији (величина примарног тумора, локална туморска инвазија, метастазе у регионалним лимфним жлијездама и удаљене метастазе)
2. Анализа интестиналног и дифузног карцинома желуца у односу на локализацију у желуцу и у односу на хистопатолошке карактеристике (хистолошки градус, инвазија лимфатика, ангиоинвазија, перинеурална инвазија, дезмоплазија, инфламативни инфилтрат и некроза)
3. Имунохистохемијско испитивање експресије Stathmina1, Ki67, p53, Bcl-2 и E-cadherina у интестиналном и дифузном карциному желуца и у сусједном нетуморском ткиву.
4. Анализа корелације експресије Stathmina 1 са пролиферативним индексом, E-cadherinom, експресијом p53 и индексом апоптозе у интестиналном и дифузном карциному желуца и сусједном нетуморском ткиву.
5. Корелација имунохистохемијске експресије Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, Bcl-2 и p53 у интестиналном и дифузном карциному са класичним прогностичким параметрима (из горе наведених тачака 1 и 2).

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Истраживање је спроведено као ретроспективна клиничко-експериментална студија. У студију су укључени испитаници са карциномом желуца који је верификован гастроскопски и потврђен патохистолошким прегледом. Из студије су били искључени испитаници са желудачним карциномом код којих је спроведена зрачна и хемиотерапија.

За истраживање је коришћен биопсијски оперативни материјал Хируршке клинике Клиничко Болничког Центра Земун (КБЦЗ) добијен у периоду од почетка 2005. године закључно са 01.06.2014год. У служби за патологију КБЦ Земун је, према устаљеном протоколу, од сваког оперативног препарата, у зависности од величине тумора, узимано од 5 до 15 биопсија, укључујући и по 2-3 биопсије околног здравог ткива желуца. Након класичне фиксације у 4% неутралном пуферизованом раствору формалдехида, биопсијски материјал је рутински обрађиван у аутотехнику, калушљен у парафинске блокове и архивиран по припадности свом патохистолошком случају.

На основу стандардних патохистолошких извјештаја из тог периода, формиране су двије експерименталне групе. Прву експерименталну групу (n=45) су чиниле оперативне биопсије са интестиналним типом аденокарцинома желуца, а другу експерименталну групу (n=45) су чиниле оперативне биопсије дифузног аденокарцинома желуца. Контролну групу како прве (n=45), тако и друге (n=45) експерименталне групе у овој студији, представљају оперативне биопсије нетуморског ткива желуца (из околине тумора) које се према протоколу узимају из оперативног препарата достављеног Служби за патологију.

Ово истраживање је обављено у складу са Хелсиншком декларацијом и препорукама Свјетске Здравствене Организације (СЗО) за експерименте на хуманом материјалу. За истраживање постоји сагласност надлежног Етичког комитета (бр. одлуке 303/1 од 27.11.2014).

4.1. Ткивни узорци

Са парафинских блокова 90 оперисаних болесника су, на микротомому *Leica RM 2135 (Austria)*, прављени резови дебљине 3-4 μ m, који су затим адхерирани на предметна стакла. За рутинску *Hematoxylin-Eosin (H&E)* методу бојења коришћене су обичне *Isolab (Germany)* плочице, док су пресеци за имунохистохемијска бојења монтирани на посебним, високо адхерентним *StarFrost-Waldemar Knittel* предметним стаклима.

4.2. Методе

На ткивним пресецима, добијеним са парафинских блокова, су након депарафинисања у ксилолу и хидратације у опадајућим алкохолима, примијењене сљедеће хистопатолошке методе:

- Рутинска Н&Е метода, на основу које смо добили информације о хистопатолошком типу тумора, хистолошком градусу тумора, дубини инвазије, инвазији лимфних судова, ангиоинвазији, перинеуралној инвазији, инфламацијском инфилтрату, дезмоплазији и некрози.
- Имунохистохемијска АВС метода са анти-Stathmin 1, анти-Ki67, анти-p53, анти-E-cadherin и анти- Vcl-2 антитијелима.

4.2.1. Имунохистохемијски метод

За имунохистохемијско одређивање нивоа експресије Stathmin 1, Ki67, p53, E-cadherina и Bcl-2 је коришћена комплексна авидин-биотин (АВС) метода (337) са примарним антителима чије су карактеристике приказане у табели 5.

Табела 5. Примарна антителима коришћена у овом истраживању

Антитијело	Произвођач	Кат.бр	Клон	Разблажење
Rabbit anti-Stathmin1 antibody	Abcam	Ab52630	Polyclonal	1:80
Rabbit monoclonal Ki67 antibody	Abcam	Ab16667	SP6	1:100
p53	Abcam	Ab4060	Polyclonal	1:100
Mouse monoclonal E-cadherin antibody	DAKO	IR059	NCH-38	1:50
Mouse monoclonal Bcl2 antibody	DAKO	M0887	124	1:50

4.2.1.1. Извођење имуноензимске реакције

Ткивни исјечци пренијети на Superfrost+ предметна стакла су најприје депарафинисани кроз серију ксилола (4 пута по 5мин) и рехидратисани у серији алкохола (3 пута по 5 мин.). Затим се приступило демаскирању антигена у цитратном пуферу (pH 6,00), у микроталасној пећници. Након испирања у фосфатном пуферу (PBS pH 7.49), услиједило је блокирање ендogene пероксидазе у трајању од 20 минута у 3% метанолском раствору водоник пероксида (H_2O_2). Након тога је услиједило испирање у PBS-у, а потом инкубација преко ноћи на $+4^{\circ}C$ са примарним антителима (анти-Stathmin1, анти-Ki67, анти-p53, анти-E-cadherin и анти- Bcl-2 антителима). Обиљежени антигени су, након испирања, инкубирани са биотинисаним секундарним антителимом (Vectastain Elite ABC кит, Vector Laboratories, Burlingame, CA) 1 сат на собној температури. Ово биотинисано антитијело реагује са авидинским молекулима коњугованим са пероксидазом. Након испирања у PBS-у, уследила је визуализација помоћу диамино-бензидин-тетрахидрохлорида (DAB), којом су маркирана места антиген-антитијело реакције браон бојом, а затим се радило контрастно бојење Mayer-овим хематоксилином. Након испирања у дестилованој води, рађена је дехидратација кроз растуће концентрације алкохола (70, 95, 100%) и испирање три пута у ксилолу. Поступак се завршавао апликацијом канада-балзама и прекривањем ткивних узорака покрвним стаклом.

4.2.1.2. Евалуација имунохистохемијске експресије

За евалуацију експресије E-cadherina узимане су у обзир само ћелије са ситнозрнастим жуто-браон депозитима локализованим на ћелијским мембранама. Депозити E-cadherina који нису локализовани на ћелијској мембрани, већ у цитоплазми, нису се вредновали.

Експресија E-cadherina је одређивана на основу процента имунореактивних ћелија. Интрамембранозна имунохистохемијска реакција у <10% ћелија се сматрала негативном имунореакцијом (-) ; присуство интрамембранозне експресије у $\geq 10\%$ се вредновало као позитивна реакција. Имунохистохемијска реакција присутна у <50% ћелија се класификовала као умјерена експресија (1+), док се позитивна имунохистохемијска реакција у >50% ћелија класификовала као изражена експресија (2+) E-cadherina (338). На идентичан начин се радила и евалуација експресије Vcl-2, али се узимала у обзир интрацитоплазматска и/или перинуклеарна експресија овог маркера.

За одређивање вриједности експресије Ki67 и p53 узимала се у обзир само пребојеност једара, док се за евалуацију експресије Stathmina 1 узимала у обзир само пребојеност цитоплазме,

Густине Stathmina 1, Ki67 и p53 позитивних ћелија су одређиване по јединици површине у mm^2 , при чему се користио вишенамјенски тестни систем M42 по Weibel-у. Објективним микрометром (Reichert Wien 2mm/200) је калибрисан тестни систем на микроскопу Olympus BH-2, на увећању 400 (10 окулар x 40 објектив), при чему је одређено мјерно поље од $0,016\text{mm}^2$. За испитивање густине Ki67, Stathmina 1 и p53 позитивних ћелија/ mm^2 , бројало се сукцесивно по 5 „врхних тачака“. Апсолутна вриједност густине позитивних ћелија у „врхној тачки“ се одређивала стереометријски (339). Аритметичка средина добијених вриједности „врхних тачака“ је представљала коначан број позитивних ћелија у mm^2 за дати случај. Затим је одређена медијана и испитаници су подијељени у двије групе: они са ниским степеном експресије (вриједности мање или једнаке вриједностима медијане), и они са високим степеном експресије (вриједности веће од вриједности медијане).

Репрезентативна поља, за фотографије приложене у овој студији, су снимана коришћењем три микроскопска увећања (x10, x20 и x40) помоћу микроскопа *Nikon Eclipse Ni (MBP 99 400)*, опремљеног камером.

4.2.1.3. Контрола квалитета и специфичности имунохистохемијског бојења

Сва имунохистохемијска бојења су изведена уз контролу квалитета и специфичности бојења, примјеном позитивних и негативних контрола према пропозицијама UK NEQAS (UK National External Quality Assessment Service for Immunohistochemistry).

Као позитивне контроле су се користили узорци инвазивног карцинома дојке који су раније вишеструко тестирани и сигурно садрже испитиване антигене. Као негативна контрола за имунохистохемијско бојење користити су се узорци ткива третирани неимуним серумом умјесто примарног антитијела.

Експресија испитиваних маркера је евалуирана од стране два независна истраживача (патолога).

4.2.2. Статистичка обрада података

Прикупљени подаци за ову студију су обрађени уз примјену стандардних статистичких процедура (SPSSver 19.0 IBM Corp). У анализи су релевантни параметри и обиљежја дефинисани циљевима истраживања и претпостављеним хипотезама. Примјењене су сљедеће методе статистичке обраде:

- прикупљање и статистичко сређивање података
- табеларно-графичко представљање резултата
- Колмогоров-Смирнов тест нормалности расподеле

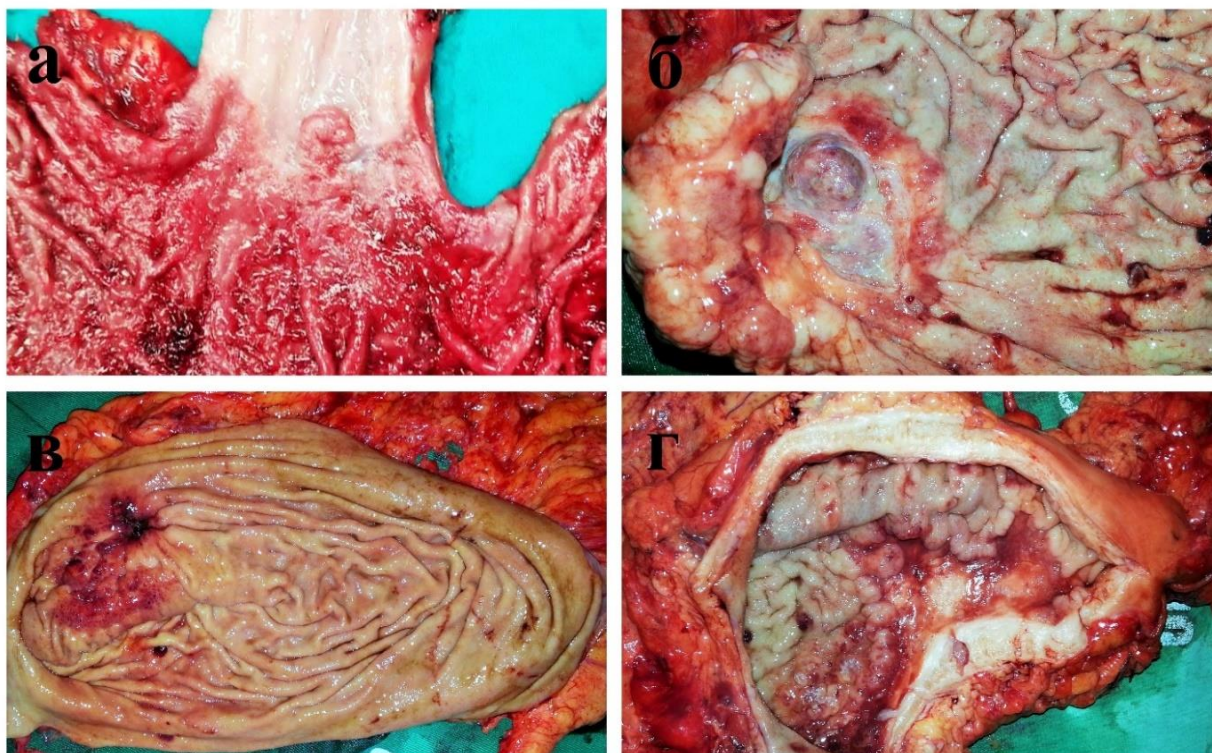
За анализу сигнификантности разлика обиљежја примијењени су сљедећи параметарски и непараметарски тестови:

- χ^2 (Chi Square) тест
- Fisher-ов exact тест
- Студентов t-тест
- Mann-Whitney U-тест
- Корелациона анализа (Spearman-ов коефицијент корелације)
- ROC (Receiver Operating Characteristic) анализа

Тестирање значајности разлика извршено је на нивоу вјероватноће $p < 0.05$.

5. РЕЗУЛТАТИ

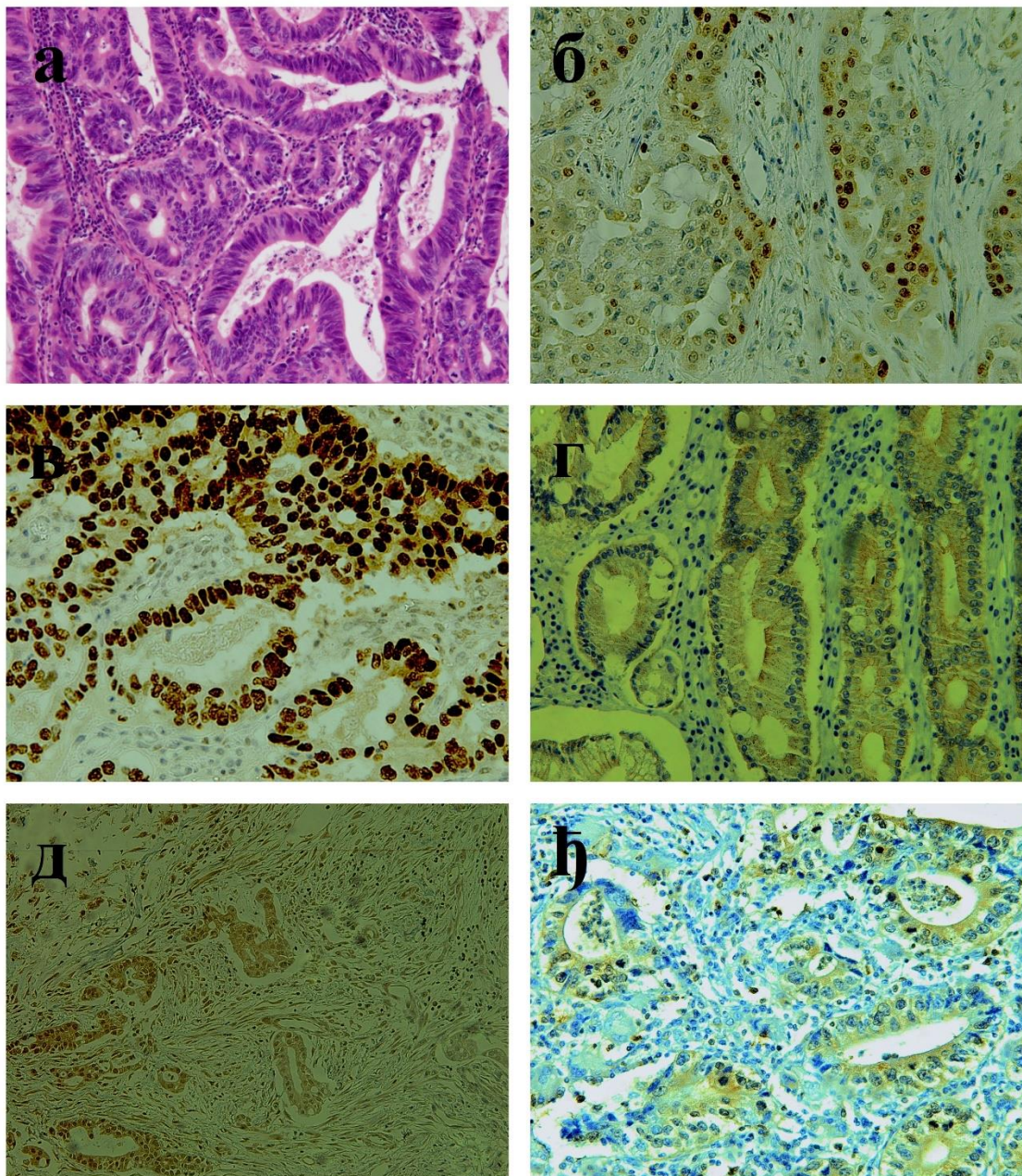
5.1. Дескриптивна макроскопска анализа



Слика 1. Начин туморског раста у желуцу: а) вегетантни; б) циркумскриптно-улцерозни; в) улцерозно-инфилтративни; г) дифузно-инфилтративни

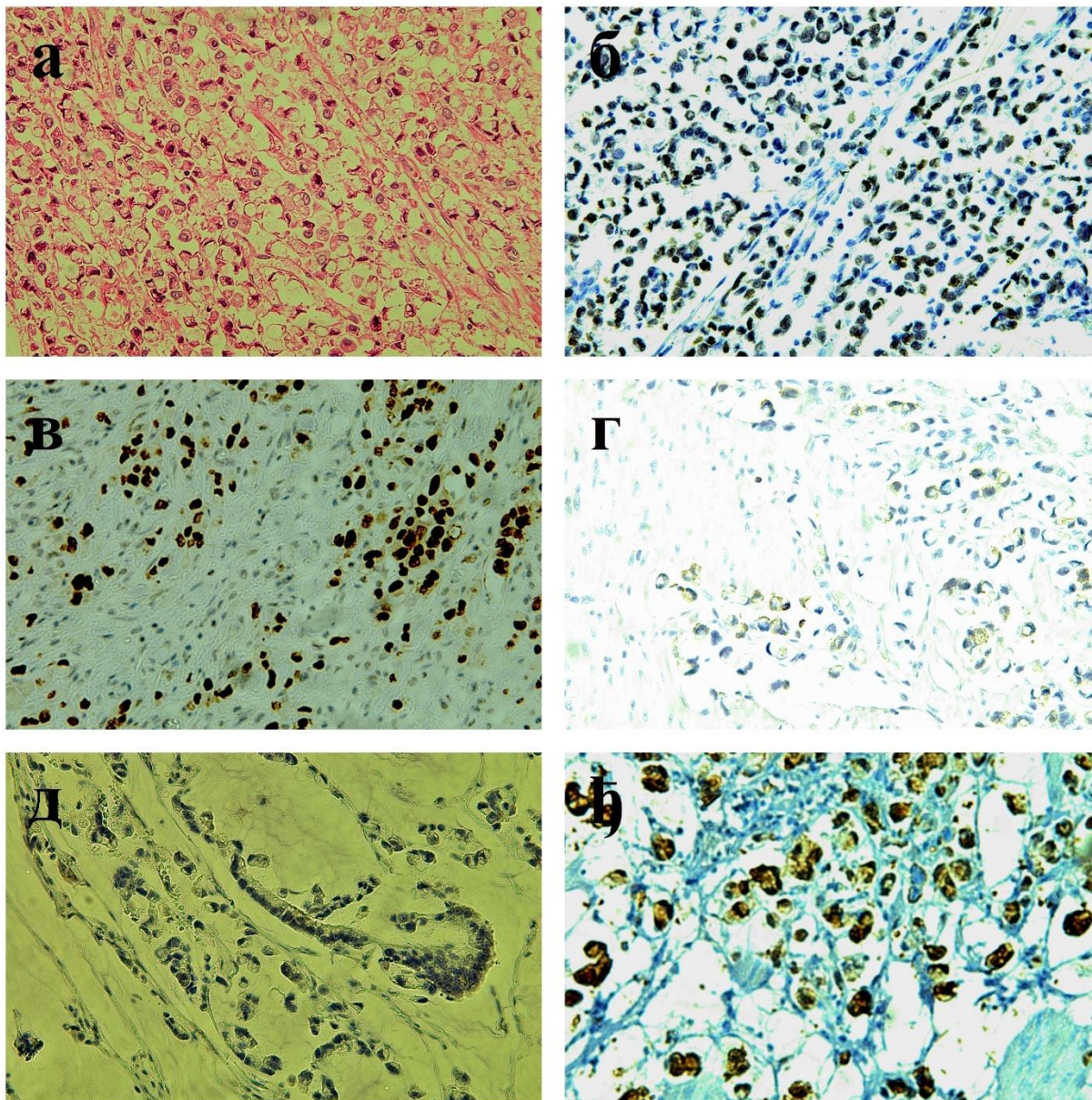
5.2. Дескриптивна микрокорфолошка анализа

5.2.1. Интестинални карцином желуца



Слика 2. Интестинални карцином желуца: а) тубуларне и тубулопапиларне структуре обложене цилиндричним епителом са једрима различитог степена атипичности (HE x 200); б) низак ниво експресије Ki67 у туморским плажама (ABC x 200); в) висок ниво експресије p53 (ABC x 200); г) редукована експресија E-cadherina (ABC x 200); д) умјерена експресија Bcl-2 (ABC x 200); ж) низак ниво експресије Stathmin 1 (ABC x 200).

5.2.2. Дифузни карцином желуца

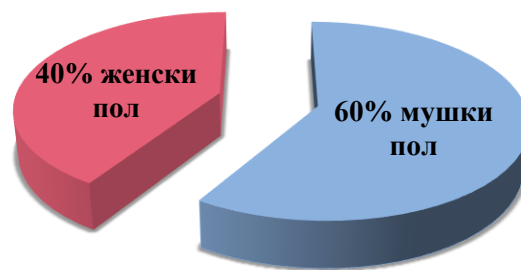


Слика 3. Дифузни карцином желуца: а) слабо кохезивне релативно униформне ћелије „прстена печатњака“ са једрима потиснутим на периферију цитоплазме (HE x 100); б) висок ниво експресије Ki67 (ABC x 100); в) изражена експресија p53 (ABC x 100); г) одсуство експресије E-cadherina и присуство у појединачним ћелијама (ABC x 100); д) фокална експресија Bcl-2 (ABC x 100); ж) изражена експресија Stathmin 1 (ABC x 200).

5.3. Статистичка анализа

5.3.1. Демографске карактеристике интестиналног и дифузног карцинома желуца

У испитиваном узорку пацијената обољелих од карцинома желуца биле су 53 особе мушког пола (58.9%) и 37 жена (41.1%) (График 1.). Разлика у заступљености испитаника по полу није статистички значајна на усвојеном нивоу поузданости $p < 0.05$. (χ^2 – тест = 2.844, $p = 0.092 > 0.05$).



Графикон 1. Расподјела испитаника по полу

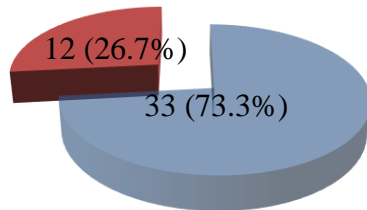
Табела 1. Расподјеле по полу у испитиваним групама

пол	Карцином желуца			
	интестинални		дифузни	
	н	%	н	%
Мушки	33	73.3	20	44.4
Женски	12	26.7	25	55.6
УКУПНО	45	100.0	45	100.0

Расподјеле по полу у испитиваним групама са различитим типом карцинома желуца, (Табели 1), значајно се разликују (χ^2 -тест=7.756, $p=0.005$). У оквиру групе пацијената са интестиналним карциномом, у сигнификантном броју случајева, преовлађује мушки пол (73.3% према 26.7%, χ^2 -тест=9.800, $p=0.002$). У групи са дифузним карциномом желуца не постоји значајна разлика у расподјели пацијената по полу (44.4% мушкараца према 55.6% жена, χ^2 -тест=0.556, $p=0.456$).

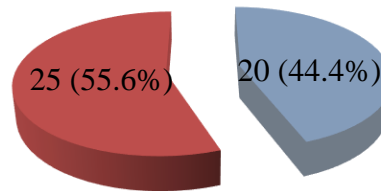
интестинални карцином

■ мушки пол ■ женски пол



дифузни карцином

■ мушки пол ■ женски пол



Графикон 2. Расподјеле по полу у испитиваним групама

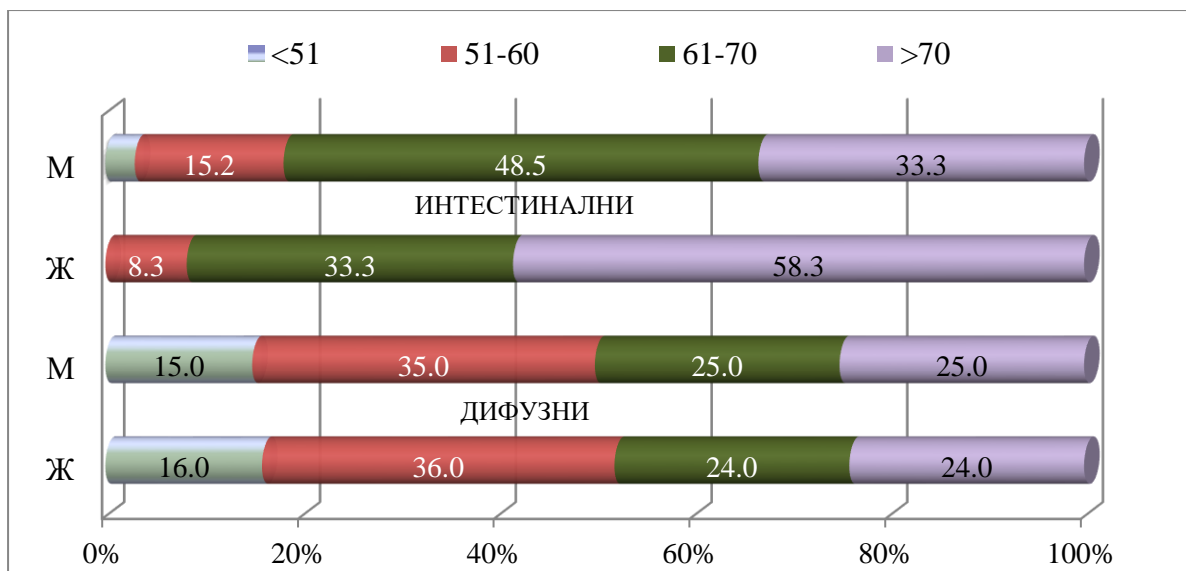
Расподјеле по годинама старости и по полу између група са интестиналним и дифузним карциномом желуца значајно се разликују (Mann-Whitney U-test = 650.5, $p=0.002$). Унутар група пацијената са интестиналним и дифузним карциномом желуца, расподјеле пацијената по интервалима годишта са Табеле 2. су сличне ($p=0.172$ за интестинални и $p=0.896$ у оквиру дифузног карцинома).

Упоређењем расподјеле старости жена између група по типу карцинома доказује се да је разлика знатна. На Табели 2. се види да је преко 50% жена са дифузним карциномом у старосној доби до 60 година, док је преко 50% жена са интестиналним карциномом у старосној доби преко 70 година.

Упоређење расподјеле старости мушкараца између група са различитим типом карцинома доказује се да статистичка разлика није значајна на усвојеном нивоу поузданости $p<0.05$, али је близу ове границе (Mann-Whitney U-test=233.5, $p=0.06>0.05$).

Табела 2. Расподјеле по годинама старости и полу у испитиваним групама

Године старости	Карцином желуца							
	Интестинални				дифузни			
	М		Ж		М		Ж	
	н	%	н	%	н	%	н	%
<51	1	3.0	0	.0	3	15.0	4	16.0
51-60	5	15.2	1	8.3	7	35.0	9	36.0
61-70	16	48.5	4	33.3	5	25.0	6	24.0
>70	11	33.3	7	58.3	5	25.0	6	24.0
УКУПНО	33	100.0	12	100.0	20	100.0	25	100.0



Графикон 3. Расподјеле по годинама старости и полу у испитиваним групама

Просјечна старосна доб пацијената са карциномом желуца, као и остали дескриптивни параметри, приказани су на Табели 3. и Графикону 4., по полу и у групама хистолошког типа карцинома.

Примјеном статистичког теста за упоређење просјечне старосне доби мушкараца са интестиналним карциномом желуца (65.7 ± 7.62) са просјечном старосном доби мушкараца са дифузним карциномом желуца (61.1 ± 12.25), доказује се да разлика није значајна (т-тест=1.504, $p=0.114$).

Упоређењем просјечне старости у оквиру женског пола, примјеном исте статистичке процедуре, доказује се да су жене са интестиналним (70.9 ± 6.78) сигнификантно старије од жена са дифузним карциномом желуца (60.8 ± 11.9 , т-тест=3.267, $p=0.002$).

Просјечна старосна доб мушкараца обољелих од интестиналног карцинома желуца значајно је мања у односу на просјек старости жена из исте групе (65.7 према 70.9 година, $p=0.044 < 0.05$).

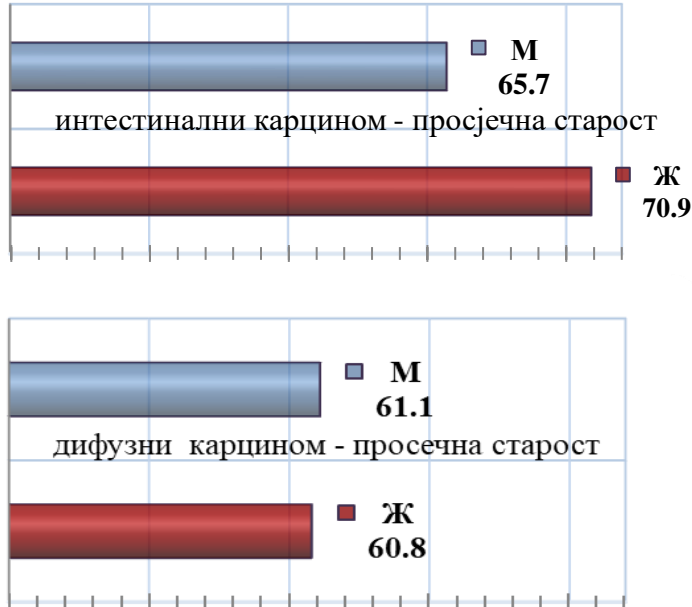
Просјечна старост мушкараца и жена у оквиру групе дифузног карцинома желуца је слична (61.1 према 60.8, $p=0.932$).

Табела 3. Дескриптивна статистика старосне доби по полу у испитиваним групама

пол	Карцином желуца								p
	интестинални				дифузни				
	Мин.	Макс.	X	Сд	Мин.	Макс.	X	Сд	
Мушки	50	81	65.7	7.62	40	84	61.1	12.25	0.114
p	0.044*				0.932				
Женски	58	81	70.9	6.78	37	82	60.8	11.91	0.002*

X- аритметичка средња вриједност, Сд-стандардна девијација

*сигнификантна разлика $p < 0.05$



Графикон 4. Просјечна старосна доб по полу у испитиваним групама

5.3.2. Клиничке и хистопатолошке карактеристике интестиналног и дифузног карцинома желуца

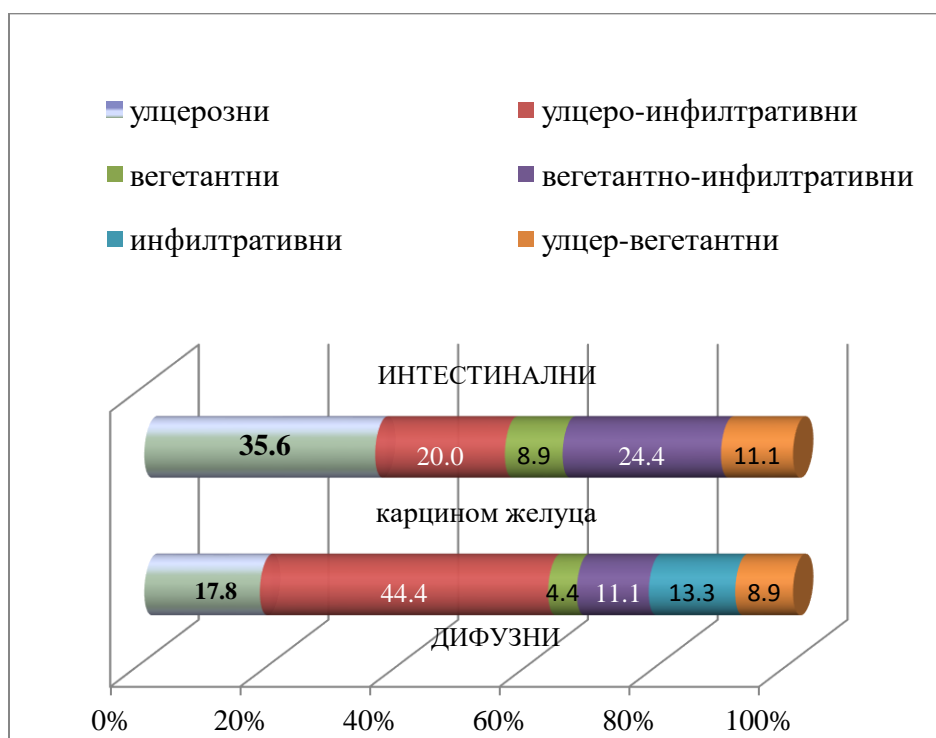
Упоређењем расподјела макроскопског типа тумора у испитиваним групама се доказује да се оне не разликују значајно (Mann-Whitney U-test=914.5, $p=0.415$).

У преко 50% интестиналног карцинома преовлађује улцерозни и улцерозно-инфилтративни макроскопски тип, а слиједи по заступљености вегетантно-инфилтративни (24.4%), затим улцер-вегетантни (11.1%) и вегетантни (8.9%).

У преко 60% дифузног карцинома желуца преовлађује улцеро-инфилтративни и улцерозни макроскопски тип, а слиједе по заступљености инфилтративни и вегетантно-инфилтративни (око 13% и 11%), затим улцерозно-вегетантни (8.9%) и вегетантни (око 4%). (Табела 4., Графикон 5.).

Табела 4. Макроскопски тип тумора у испитиваним групама

Макроскопски тип	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
улцерозни	16	35.6	8	17.8
улцерозно-инфилтративни	9	20.0	20	44.4
вегетантни	4	8.9	2	4.4
вегетантно-инфилтративни	11	24.4	5	11.1
инфилтративни	0	0	6	13.3
улцерозно-вегетантни	5	11.1	4	8.9
УКУПНО	45	100.0	45	100.0



Графикон 5. Макроскопски тип тумора у испитиваним групама

Сличност расподјела локализација тумора желуца у упоређиваним групама је очигледна, а статистичким тестирањем значајности разлика се доказује (χ^2 -тест=0.194, $p=0.660$).

Без обзира на хистолошки тип карцинома желуца у око 62%-67% случајева он је лоциран у доњој половини желуца.

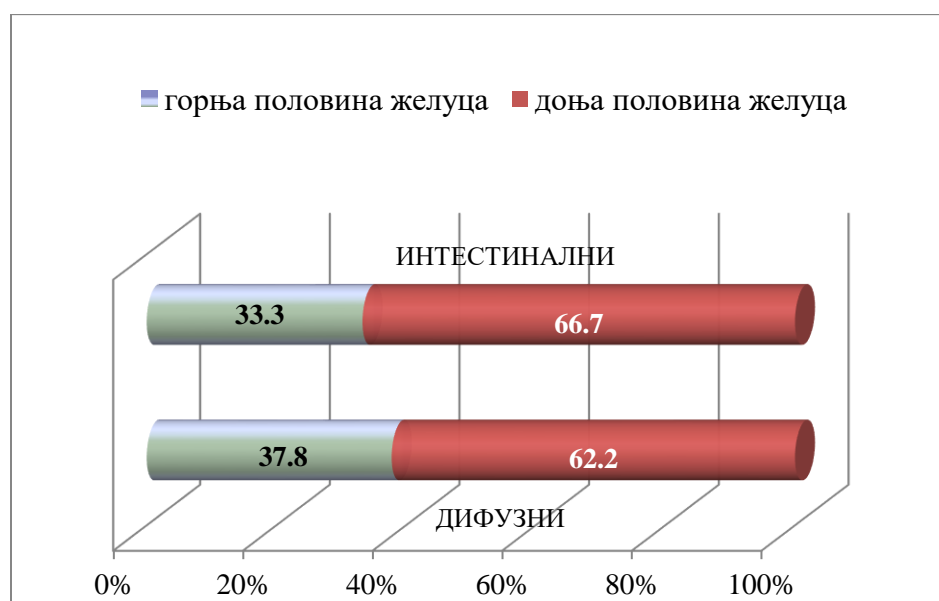
Локализација у горњој половини желуца у више од трећине испитаника (33%-38%), није и статистички значајно мања, код оба хистолошка типа (χ^2 -тест=2.689, $p=0.101$). (Табела 5., Графикон 6.).

Табела 5. Локализација тумора у испитиваним групама

Локализација	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
горња половина желуца ¹	15	33.3	17	37.8
доња половина желуца ²	30	66.7	28	62.2
УКУПНО	45	100.0	45	100.0

¹ (кардија, задњи зид, фундус, предњи зид и велика кривина)

² (антрум, пилорус и мала кривина)



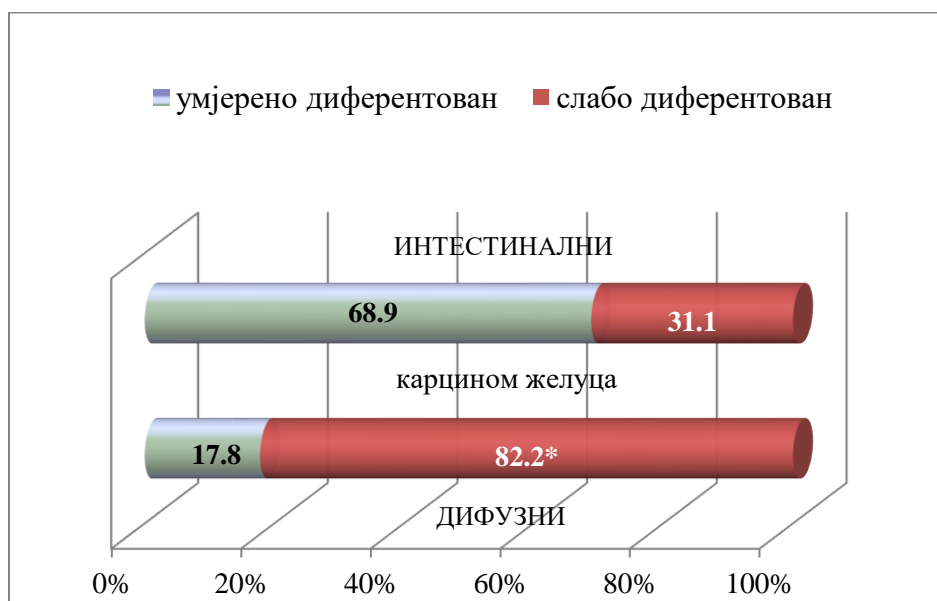
Графикон 6. Локализација тумора у испитиваним групама

Према хистолошком градусу постоји значајна разлика између интестиналног и дифузног карцинома желуца. (χ^2 -тест = 23.937, $p<0.001$).

Интестинални карцином је у сигнификантном броју случајева умјерено диферентован (око 69% према 31% случајева, $p=0.011$), док је дифузни у знатно већем броју случајева слабо диферентован (око 82% према 18% случајева, $p<0.001$) (Табела 6., Графикон 7.).

Табела 6. Хистолошки градус тумора у испитиваним групама

Хистолошки градус	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
Умјерено диферентован	31	68.9	8	17.8
Слабо диферентован	14	31.1	37	82.2
УКУПНО	45	100.0	45	100.0



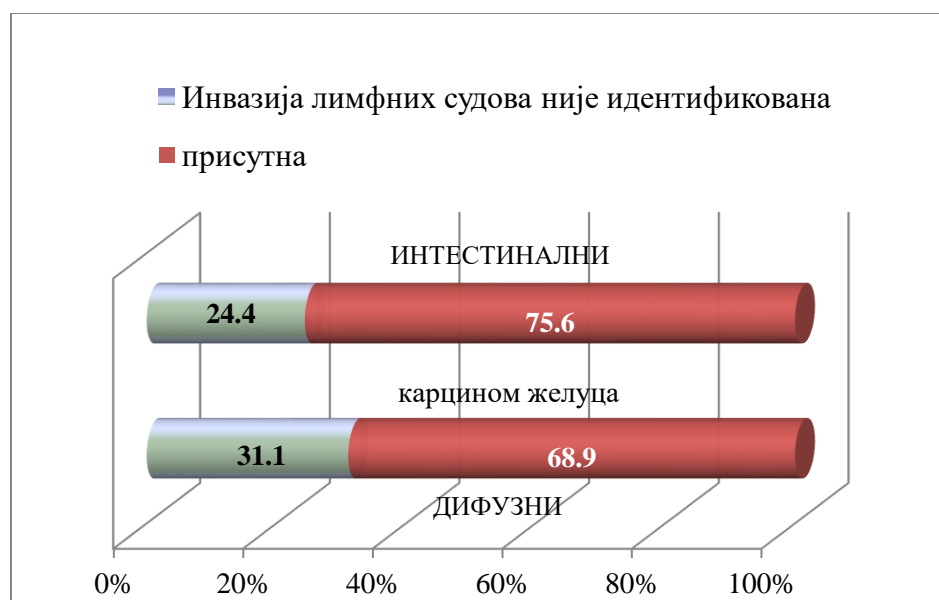
Графикон 7. Хистолошки градус тумора у испитиваним групама

У највећем броју случајева инвазија лимфних судова присутна је код оба упоређивана типа карцинома желуца (Табела 7.). У расподјели случајева са инвазијом лимфних судова су ова два карцинома слична, односно нема статистички значајне разлике (χ^2 -тест=0.498, $p=0.480$).

Присуство инвазије лимфних судова од око 69% код дифузног и у око 76% код интестиналног карцинома, значајно је веће од учесталости случајева гдје ова појава није идентификована ($p=0.011 < 0.05$ за дифузни и $p=0.001$ за интестинални карцином). (Табела 7., Графикон 8.).

Табела 7. Инвазија лимфних судова у испитиваним групама

Инвазија лимфних судова	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
није идентификована	11	24.4	14	31.1
Присутна	34	75.6	31	68.9
УКУПНО	45	100.0	45	100.0



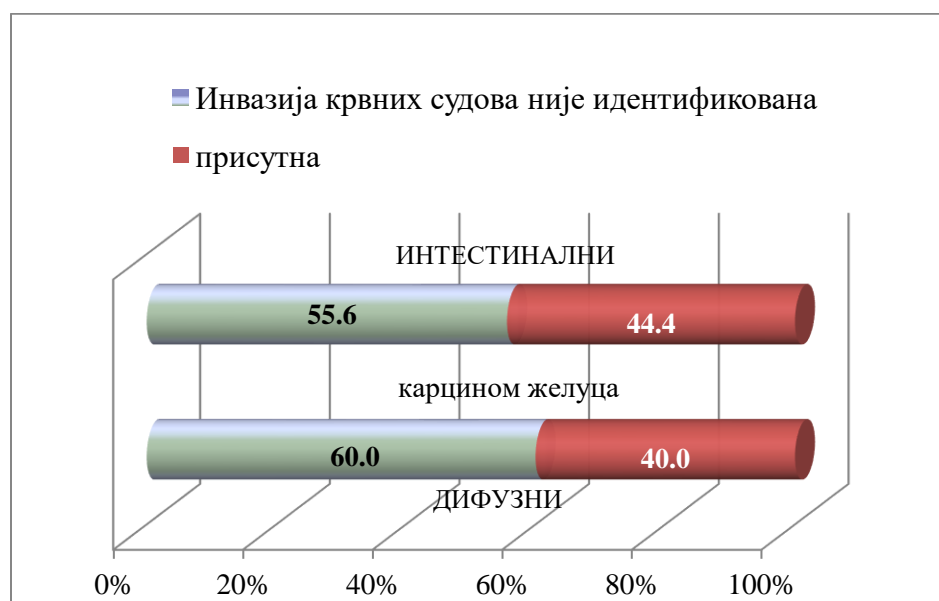
Графикон 8. Инвазија лимфних судова у испитиваним групама

Инвазија крвних судова није идентификована у већем броју случајева код оба типа карцинома (у око 56% тј. 60% случајева), тако да се расподјеле не разликују између група. (χ^2 -тест = 0.182, $p=0.670$).

Мања учесталост присуства инвазије крвних судова код оба карцинома (40%-44%), није и сигнификантно мања, што се доказује статистичким тестом ($p=0.118$ за дифузни и $p=0.456$ за интестинални карцином) (Табела 8., Графикон 9.).

Табела 8. Инвазија крвних судова у испитиваним групама

Инвазија крвних судова	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
Није идентификована	25	55.6	27	60.0
Присутна	20	44.4	18	40.0
УКУПНО	45	100.0	45	100.0

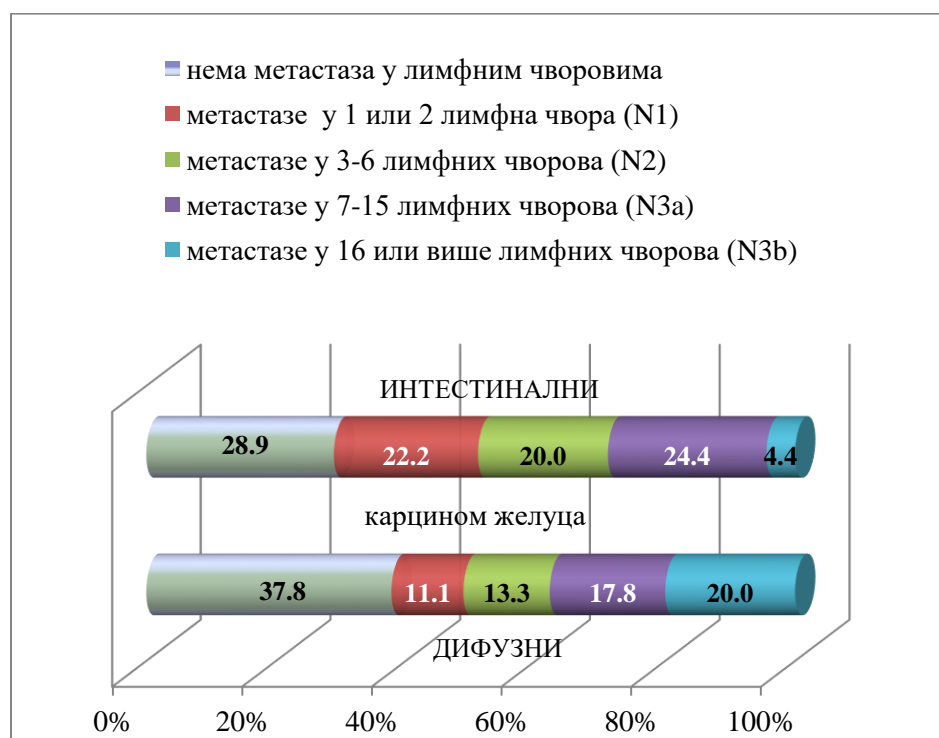


Графикон 9. Инвазија крвних судова у испитиваним групама

На Табели 9. и Графикону 10. приказане су расподјеле метастаза по присуству и броју захваћености лимфних чворова у свакој од испитиваних група карцинома. Упоређењем расподјела између група доказује се да разлика није сигнификантна (Mann-Whitney U-тест=963.5, $p=0.684$).

Табела 9. Метастазе у лимфним чворовима у испитиваним групама

Метастазе у лимфним чворовима	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
нема метастаза у лимфним чворовима	13	28.9	17	37.8
метастазе у 1 или 2 лимфна чвора (N1)	10	22.2	5	11.1
метастазе у 3-6 лимфних чворова (N2)	9	20.0	6	13.3
метастазе у 7-15 лимфних чворова (N3a)	11	24.4	8	17.8
метастазе у 16 или више лимфних чворова (N3b)	2	4.4	9	20.0
УКУПНО	45	100.0	45	100.0



Графикон 10. Метастазе у лимфним чворовима у испитиваним групама

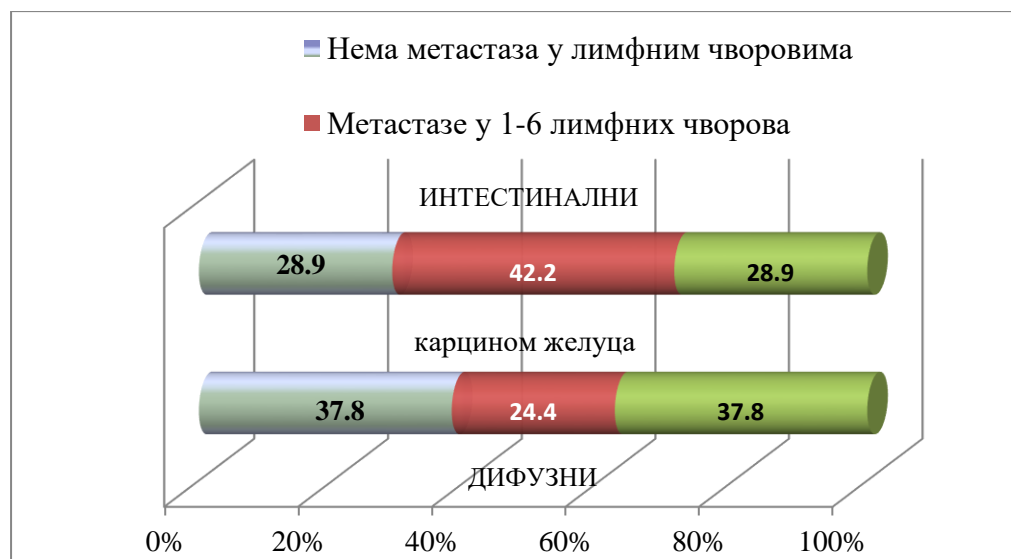
Боља представа о распрострањености метастаза добија се када се подаци групишу на начин како је то приказано на Табели 10. и Графикону 11. Тестирањем значајности разлика између овако формираних расподела потврђује се њихова статистичка сличност (χ^2 -тест=3.200, $p=0.202$).

Као и са претходне табеле, одсуство метастаза веће је у групи дифузног карцинома, али не значајно (око 38% према 29% случајева, χ^2 -тест=0.533, $p=0.465$).

Такође, груписањем лимфних чворова са метастазама N1 и N2 (од 1 до 6 лимфних чвора), примјетно је да су метастазе у већем броју заступљене код интестиналног него код дифузног карцинома (око 42% према 24%). Истовремено, група метастаза N3a и N3b (метастазе у 7 и више лимфних чворова), учесталија су појава код дифузног него код интестиналног карцинома (око 38% према 29% случајева). Међутим, ни у овом случају разлика није сигнификантна ($p=0.144$ интестинални и $p=0.465$ дифузни карцином).

Табела 10. Метастазе у лимфним чворовима (груписане) у испитиваним групама

Метастазе у лимфним чворовима	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
нема метастаза у лимфним чворовима	13	28.9	17	37.8
метастазе у 1 – 6 лимфних чворова (N1+ N2)	19	42.2	11	24.4
метастазе у 7 и више лимфних чворова (N3a+ N3b)	13	28.9	17	37.8
УКУПНО	45	100.0	45	100.0

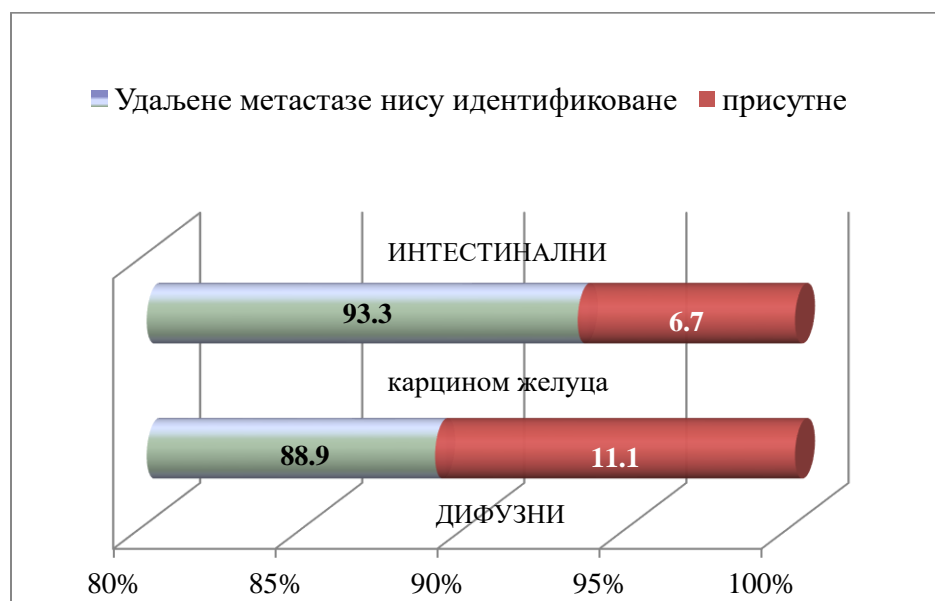


Графикон 11. Метастазе у лимфним чворовима (груписане) у испитиваним групама

Присуство удаљених метастаза изузетно је ријетка појава код карцинома желуца без обзира на хистолошки тип. На Табели 12. и Графикону 13. се запажа да у око 90%-93% случајева нису идентификоване удаљене метастазе код оба типа карцинома. У томе су ове упоређиване групе сличне што се доказује и статистичким тестом. (χ^2 -тест=0.549, p=0.459).

Табела 11. Удаљене метастазе у испитиваним групама

Удаљене метастазе	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
нису идентификоване	42	93.3	40	88.9
присутне	3	6.7	5	11.1
УКУПНО	45	100.0	45	100.0

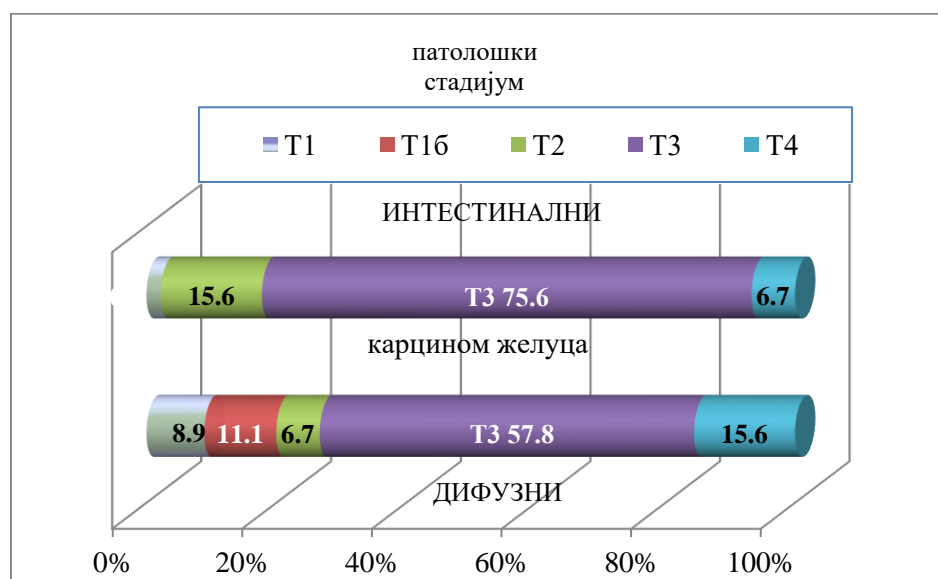


Графикон 12. Удаљене метастазе у испитиваним групама

Патолошки стадијум тумора у оквиру интестиналног карцинома желуца распоређен је на сличан начин као код дифузног типа карцинома. Упоређењем расподеле патолошког стадијума између ова два типа карцинома доказује се да разлика није сигнификантна. (Mann-Whitney U -тест=963.5, p=0.684). (Табела 12., Графикон 13.).

Табела 12. Патолошки стадијум у испитиваним групама

Патолошки стадијум	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	Н	%	н	%
T1	1	2.2	4	8.9
T16	0	.0	5	11.1
T2	7	15.6	3	6.7
T3	34	75.6	26	57.8
T4	3	6.7	7	15.6
УКУПНО	45	100.0	45	100.0



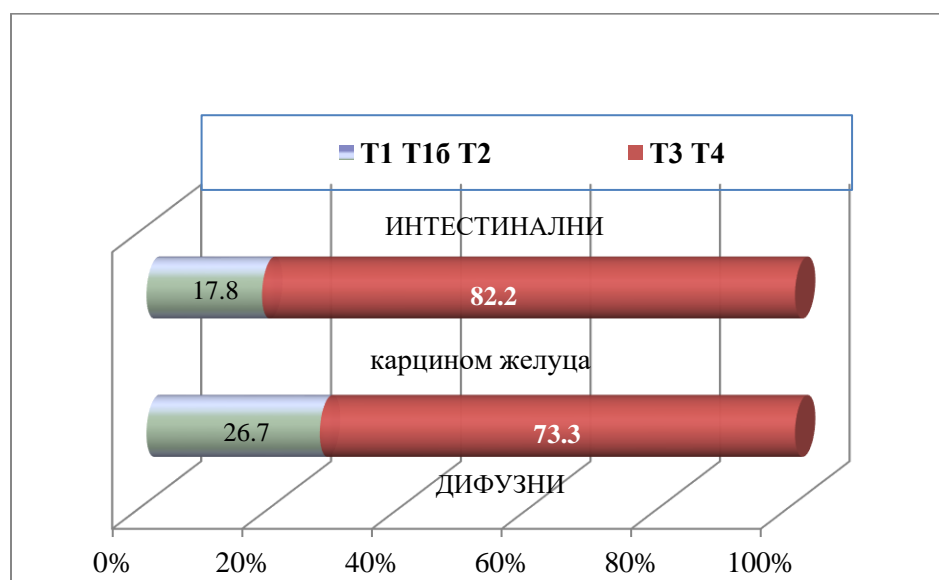
Графикон 13. Патолошки стадијум у испитиваним групама

Бољи увид у расподјелу патолошких стадијума пружа приказ груписаних стадијума, на начин како то приказује Табела 13. и Графикон 14. Претходни доказ о сличности расподјела патолошког стадијума између група са различитим хистолошким типом тумора, постаје уочљив.

У сигнификантном броју случајева (око 73% до 82% случајева) преовлађују виши патолошки стадијуми тумора, без разлике између група. Сигнификантност у оквиру група, виших стадијума (T3 и T4), у односу на све остале – ниже стадијуме, је доказана. (χ^2 -тест, $p < 0.001$ интестинални и $p = 0.002 < 0.05$ дифузни карцином).

Табела 13. Патолошки стадијум (груписан) у испитиваним групама

Патолошки стадијум	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
T1 T16 T2	8	17.8	12	26.7
T3 T4	37	82.2	33	73.3
УКУПНО	45	100.0	45	100.0



Графикон 14. Патолошки стадијум (груписан) у испитиваним групама

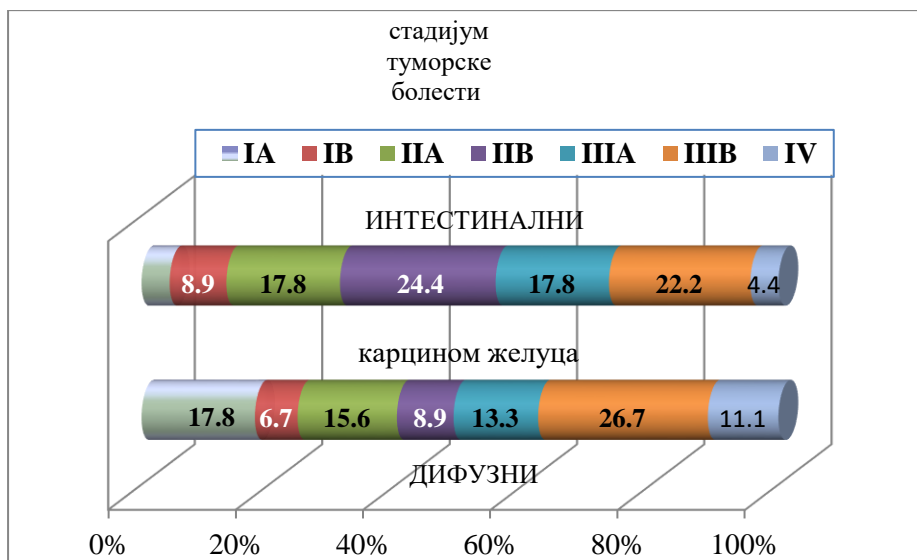
Туморска болест - карцином желуца, разврстан по свим стадијумима у односу на упоређиване групе типа тумора, приказан је на Табели 14. и Графикону 15.

Највише испитаника са интестиналним карциномом желуца је дијагностиковано у ПВ стадијуму, док је највише испитаника са дифузним карциномом било у ШВ стадијуму туморске болести.

Примјеном статистичке процедуре за упоређење расподјела стадијума болести између група доказује се да нема значајне разлике између интестиналног и дифузног карцинома желуца. (Mann-Whitney U -тест=1007.0, p=0.964).

Табела 14. Стадијум туморске болести у испитиваним групама

Стадијум туморске болести	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
IA	2	4.4	8	17.8
IB	4	8.9	3	6.7
IIA	8	17.8	7	15.6
IIB	11	24.4	4	8.9
IIIA	8	17.8	6	13.3
IIIB	10	22.2	12	26.7
IV	2	4.4	5	11.1
УКУПНО	45	100.0	45	100.0



Графикон 15. Стадијум туморске болести у испитиваним групама

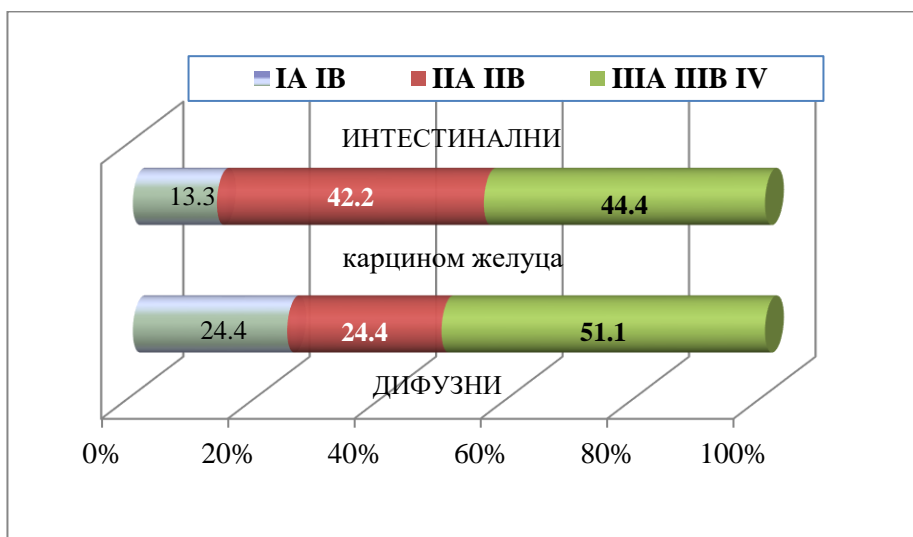
Сличност расподјела између стадијума туморске болести очигледна је када се стадијуми групишу на начин приказан на Табели 15. и Графикону 16.

У најнижем стадијуму обољења I са подгрупама A и B, налази се најмањи број случајева (око 13%-24%), без значајне разлике између група (χ^2 -тест, $p=0.225$).

Значајна разлика не постоји ни када се упореде стадијуми II и III/IV, између типова карцинома (интестинални око 40% случајева, дифузни од 24-51%, (χ^2 -тест, $p=0.558$).

Табела 15. Стадијум туморске болести (груписан) у испитиваним групама

Стадијум туморске болести	Карцином желуца			
	Интестинални		Дифузни	
	н	%	н	%
IA и IB	6	13.3	11	24.4
IIA и IIB	19	42.2	11	24.4
IIIA, IIIB и IV	20	44.4	23	51.1
УКУПНО	45	100.0	45	100.0



Графикон 16. Стадијум туморске болести (груписан) у испитиваним групама

Експресије Ki67, p53, и Vcl-2, изражене присуством имунопозитивних ћелија по мм,² у групи интестиналног у односу на дифузни карцином желуца, не разликују се значајно. (Табела 16, Графикон 17.).

Ниски и високи индекси пролиферације/експресије Ki67 заступљени су у равноправном односу од око 50%, код оба типа карцинома.

Тумор супресор протеин p53 такође има висок индекс експресије од око 50% случајева. За разлику од Ki67, заступљеност ниских индекса експресије p53 је мања (око 4-18%), у односу на број случајева са одсуством експресије овог маркера (око 30-47% случајева), код обје испитиване групе.

У највећем броју случајева (44% интестинални, а у 58% случајева дифузни карцином) Vcl-2 је са одсуством експресије. У приближно једној трећини случајева присутна је умјерена (33-36%), а најмања је заступљеност изражене експресије Vcl-2 (9-20%). У оваквој експресији Vcl-2 испитиване групе су сличне.

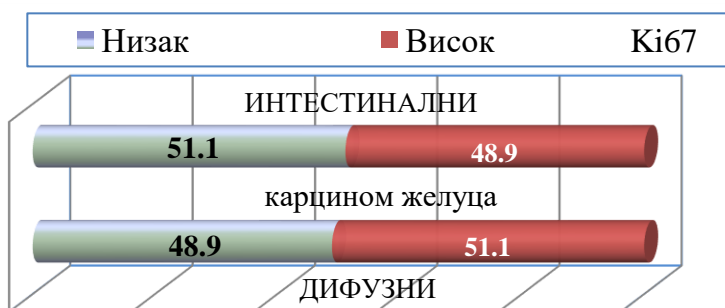
Индекс експресије Stathmin-a 1 и експресија E-cadherin-a, у групи интестиналног у односу на дифузни карцином желуца, значајно се разликују. (Табела 16).

Индекс експресија Stathmin-a 1 је у обе врсте карцинома у око 49% случајева. Статистичка разлика у експресији овог маркера односи се на већу учесталост случајева са ниским индексом експресије код дифузног карцинома у односу на интестинални (око 38% према 13% случајева). Истовремено, код интестиналног је заступљеност случајева са одсуством експресије у истом односу (око 38% према 13% случајева) већа него код дифузног. У томе се експресија Stathmin-a 1 разликује између ове двије групе карцинома.

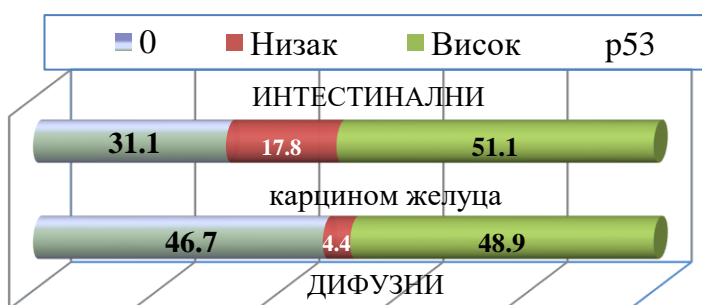
Сигнификантно висока учесталост случајева умјерене експресије E-cadherin-a (68.9%, $p < 0.001$) у групи интестиналног карцинома, у односу на сигнификантан број случајева одсуства експресије E-cadherin-a (82.2%, $p < 0.001$) у групи дифузног карцинома, чине ову разлику значајном.

Табела 16. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Bcl-2 у односу на испитиване групе карцинома желуца

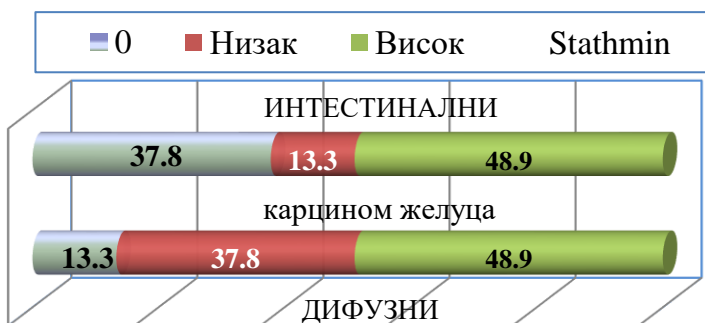
маркери	Карцином желуца				p
	интестинални (n=45)		дифузни (n=45)		
	н	%	Н	%	
Ki67					
Низак	23	51.1	22	48.9	0.833
Висок	22	48.9	23	51.1	
p53					
0	14	31.1	21	46.7	0.081
Низак	8	17.8	2	4.4	
Висок	23	51.1	22	48.9	
Stathmin 1					
0	17	37.8	6	13.3	0.005*
Низак	6	13.3	17	37.8	
Висок	22	48.9	22	48.9	
E-cadherin					
(-)	13	28.9	37	82.2	<0.001*
(+)	31	68.9	8	17.8	
(++)	1	2.2	0	.0	
Bcl-2					
(-)	20	44.4	26	57.8	0.254
(+)	16	35.6	15	33.3	
(++)	9	20.0	4	8.9	



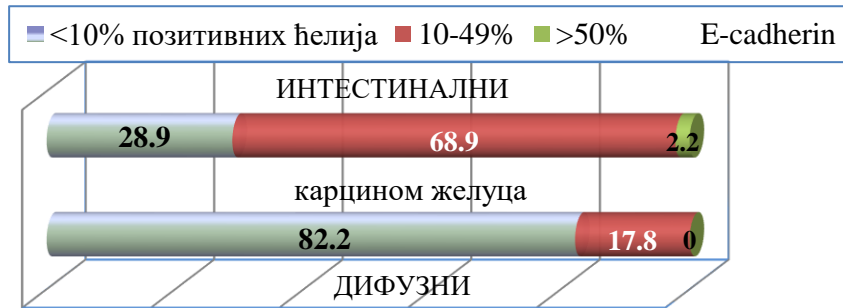
Графикон 17а. Експресија Ки67 у односу на испитиване групе карцинома желуца



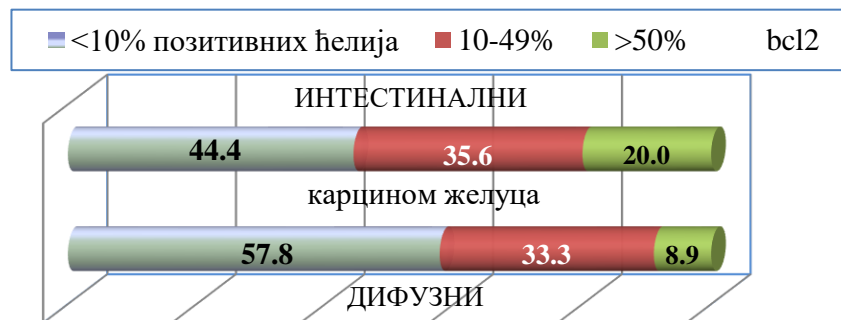
Графикон 17б. Експресија p53 у односу на испитиване групе карцинома желуца



Графикон 17в. Експресија Stathmina 1 у односу на испитиване групе карцинома желуца



Графикон 17г. Експресија E-cadherina (Д) у односу на испитиване групе карцинома желуца



Графикон 17е. Експресија Bcl-2 у односу на испитиване групе карцинома желуца

5.3.3. Имунохистохемијско испитивање експресије Ki67, Stathmin 1, p53, E-cadherina и Bcl-2 у интестиналном и дифузној карциному желуца и у сусједном нетуморском ткиву

Имунохистохемијским испитивањем експресије нуклеарног пролиферативног антигена (Ki67), тумор супресор протеина (p53) и онкопротеина Stathmin-a 1, добијене су апсолутне величине распрострањености позитивних ћелија у мм².

Основне карактеристике ових величина (медијана, минималне и максималне вриједности, сигнификантност разлика) за Ki67 приказују Табела 17. и Графикон 18., за упоређиване групе интестиналног и дифузног карцинома и контролну групу – нетуморског ткива.

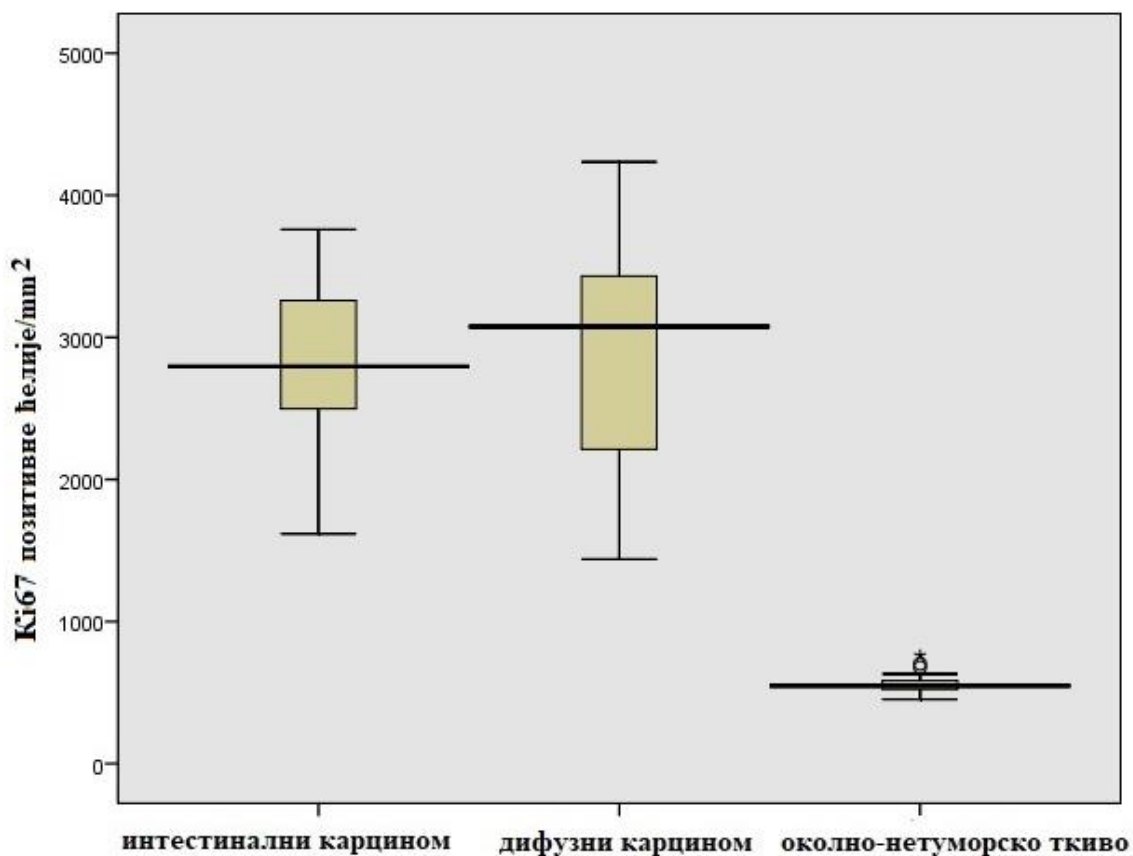
Примијењени медијана тест показује да је експресија Ki67 код оба типа карцинома желуца слична, односно да разлика медијане није значајна (приближно оба карцинома су са око 3000 позитивних ћелије у мм²).

У односу на контролну групу – број позитивних ћелија у мм² нетуморског ткива, обје групе карцинома показују значајно више вредности експресија Ki67- позитивних ћелије у мм². (Табела 17. и Графикон 18).

Табела 17. Експресија Ki67 - позитивне ћелије у мм² у испитиваним и контролној групи

варијабле	Групе			сигнификантност разлика		
	интестинални ¹	дифузни ²	контролна ³	p ¹²	p ¹³	p ²³
Ki67						
Медијана	2795.617	3200.089	547.227	0.522	<0.001*	<0.001*
Минимум	1617.889	1439.445	452.057			
Максимум	3759.213	4235.063	761.360			

*сигнификантна разлика p<0.05 (Медијана тест)



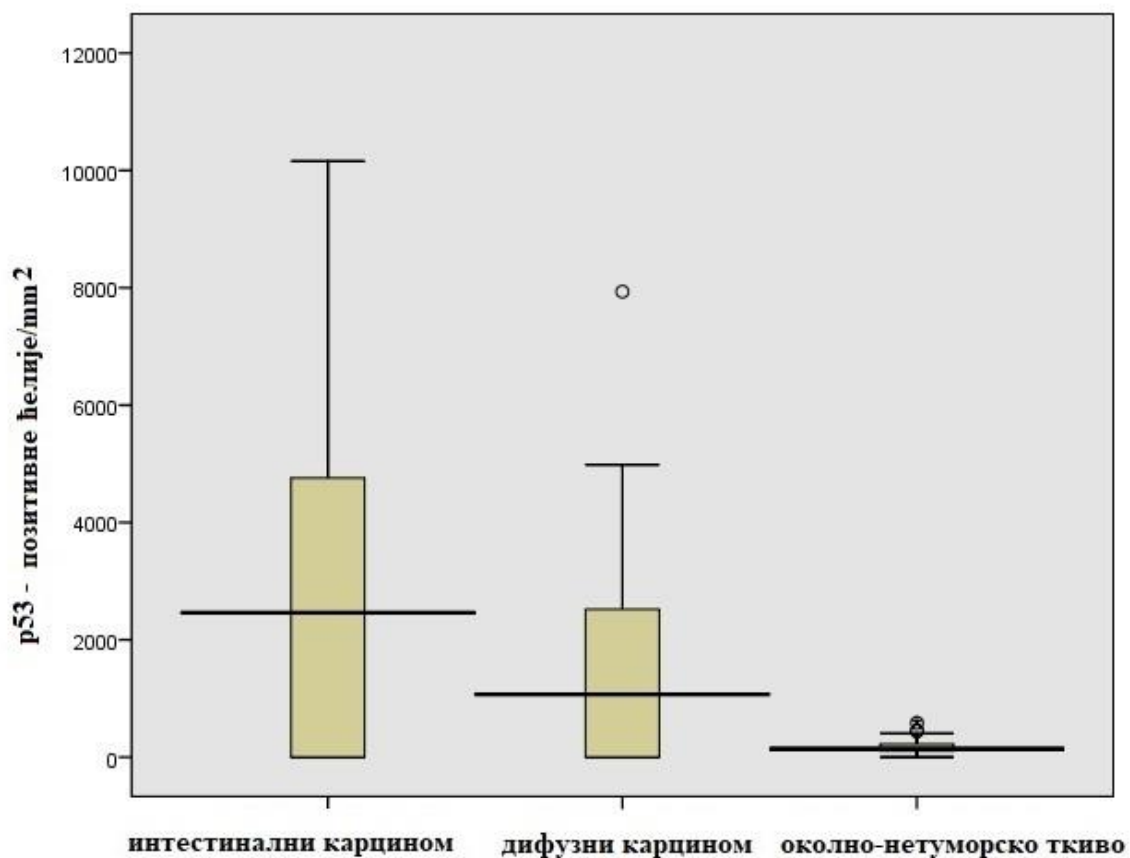
Графикон 18. Вох-plot дијаграм Ki67

Експресија p53, изражена бројем позитивних ћелија у мм² (медијана=2462.522), у интестиналном карциному желуца, сигнификантно је већа у односу на дифузни и контролну групу – нетуморско ткиво. (Табела 18. и Графикон 19.).

Табела 18. Експресија p53 - позитивне ћелије у мм² у испитиваним и контролној групи

варијабле	групе			сигнификантност разлика		
	интестинални ¹	дифузни ²	контролна ³	p ¹²	p ¹³	p ²³
p53						
Медијана	2462.522	1070.662	142.755	0.010*	<0.001*	<0.001*
Минимум	0.000	0.000	0.000			
Максимум	10159.390	7934.793	606.708			

*сигнификантна разлика p<0.05 (Медијана тест)



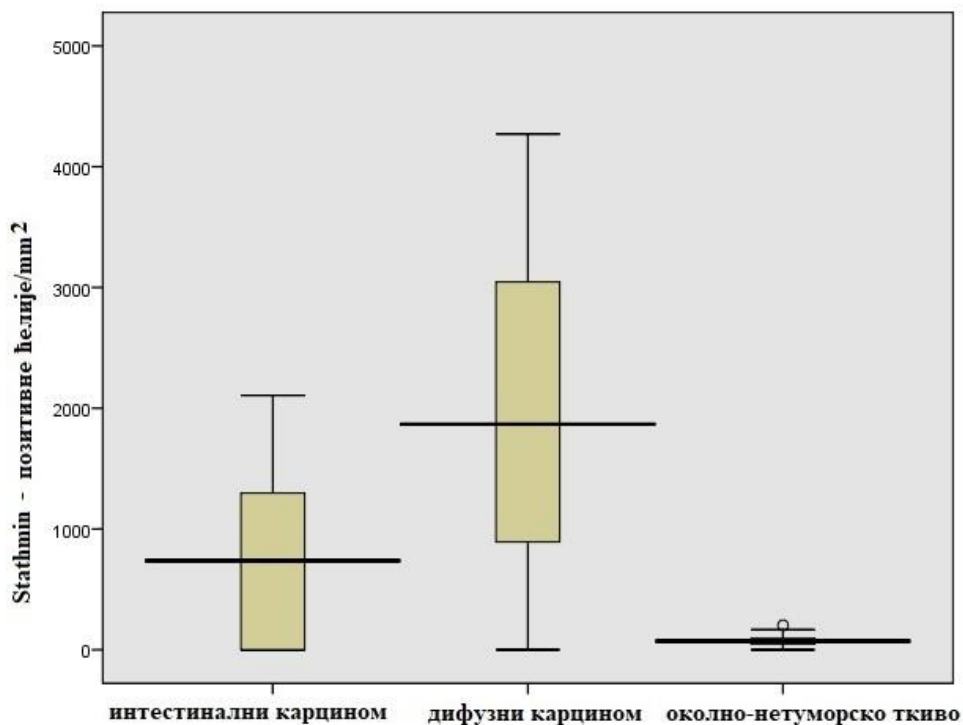
Графикон 19. Box-plot дијаграм p53

Када се експресија Stathmin-а 1 статистички анализира доказује се да је медијана позитивних ћелија у мм² овог биомаркера (1867.710) значајно већа у ткиву дифузног карцинома, како у односу на контролну групу - нетуморско ткиво, тако и у односу на интестинални карцином желуца. (Табела 19. и Графикон 20.).

Табела 19. Експресија Stathmina 1 - позитивне ћелије у мм² у испитиваним и контролној групи

варијабле	групе			сигнификантност разлика		
	интестинални ¹	дифузни ²	контролна ³	p ¹²	p ¹³	p ²³
Stathmin 1						
Медијана	737.567	1867.710	71.377	<0.001*	0.015*	<0.001*
Минимум	0.000	0.000	0.000			
Максимум	2105.635	4270.751	202.236			

*сигнификантна разлика p<0.05 (Медијана тест)



Графикон 20. Box-plot дијаграм Stathmina 1

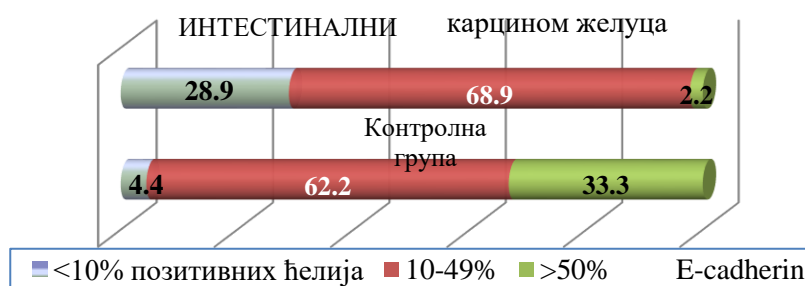
Упоређењем експресија E-cadherina у интестиналном карциному и у контролној групи доказује се значајна разлика.

Оно по чему се групе не разликују је то да је и у једној и у другој групи највећа учесталост умјерене експресије (од 62% у контролној до 69% у групи интестиналног карцинома, $p=0.696$).

Значајна разлика у експресијама између група настаје када се упореде случајеви одсуства експресије, којих је код интестиналног карцинома било у око 29% случајева наспрам 4% у контролној групи ($p=0.005$). Затим, значајно је већа заступљеност изражене експресије E-cadherina у нетуморском ткиву - контролној групи у односу на ткиво интестиналног карцинома желуца (33% према 2% случајева, $p=0.001$). (Табела 20. и Графикон 21.).

Табела 20. Експресија E-cadherina - позитивне ћелије у мм² у групи интестиналног карцинома и контролној групи

маркер	групе				P
	интестинални		контролна		
	н	%	н	%	
E-cadherin					
(-)	13	28.9	2	4.4	<0.001*
(+)	31	68.9	28	62.2	
(++)	1	2.2	15	33.3	



Графикон 21. Експресија E-cadherina - позитивне ћелије у мм² у групи интестиналног карцинома и контролној групи

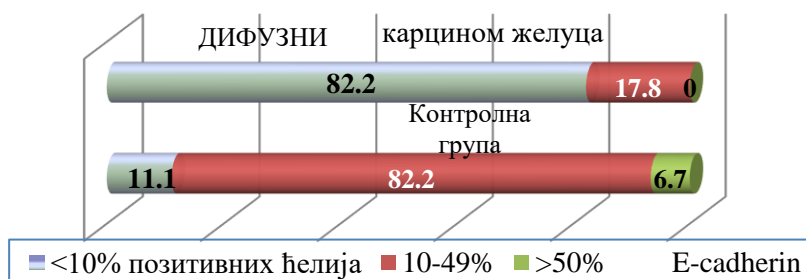
Значајност разлике у експресији E-cadherin-a у дифузном карциному и контролној групи последица је значајног одсуства експресије у 82% у ткиву дифузног тумора, а умјерена експресија изузетно је ријетка појава.

Насупрот тога, у контролној групи, у истом, значајном броју случајева (82%), заступљена је умјерена експресија E-cadherin-a. Одсуство експресије E-cadherin-a знатно је рјеђа појава (око 11% случајева).

Појава изражене експресије E-cadherin-a изузетно је ријетка појава, а у малом броју случајева постојала је у нетуморском ткиву контролне групе (до 7%). (Табела 21. и Графикон 22.).

Табела 21. Експресија E-cadherina - позитивне ћелије у мм² у групи дифузног карцинома и контролној групи

маркер	групе				P
	дифузни		контролна		
	н	%	н	%	
E-cadherin					
(-)	37	82.2	5	11.1	<0.001*
(+)	8	17.8	37	82.2	
(++)	0	.0	3	6.7	

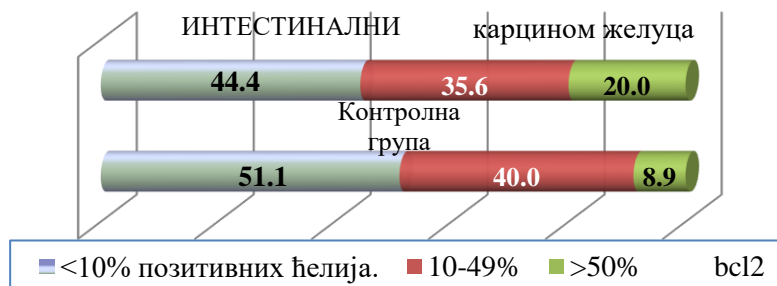


Графикон 22. Експресија E-cadherina - позитивне ћелије у мм² у групи дифузног карцинома и контролној групи

Између група интестиналног карцинома желуца и контролне групе не постоји значајна разлика у експресији Vcl-2 позитивних ћелија у мм². Сличност расподеле очигледна је са Табеле 22. и Графикана 23.

Табела 22. Експресија Vcl-2 - позитивне ћелије у мм² у групи интестиналног карцинома и контролној групи

маркер	групе				P
	интестинални		контролна		
	н	%	н	%	
Vcl-2					
(-)	20	44.4	23	51.1	0.325
(+)	16	35.6	18	40.0	
(++)	9	20.0	4	8.9	



Графикон 23. Експресија Vcl-2 - позитивне ћелије у мм² у групи интестиналног карцинома и контролној групи

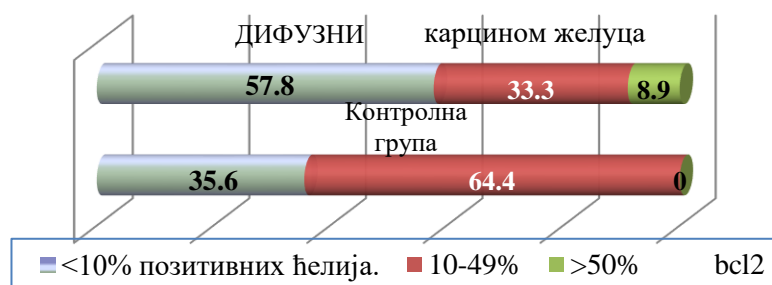
За разлику од интестиналног, експресија Vcl-2 у дифузноом карциному значајно је различита у односу на контролну групу.

Код дифузног карцинома желуца највећа је учесталост одсуства експресије Vcl-2 (око 58%), а слиједе по учесталости случајеви са умјереном експресијом (око 33% случајева). Знатно је рјеђа појава изражене експресије овог маркера (до 9%).

У контролној групи – нетуморском ткиву, највећа је учесталост случајева умјерене експресије Vcl-2 (око 64%), а слиједе по учесталости случајеви одсуства експресије (око 36% случајева), што је супротно расподјели у ткиву дифузног карцинома. У томе се ове двије групе значајно разликују. (Табела 23. и Графикон 24.).

Табела 23. Експресија Vcl-2 - позитивне ћелије у мм² у групи дифузног карцинома и контролној групи

маркер	групе				P
	дифузни		контролна		
	н	%	н	%	
Vcl-2					
(-)	26	57.8	16	35.6	0.004*
(+)	15	33.3	29	64.4	
(++)	4	8.9	0	.0	



Графикон 24. Експресија Vcl-2 - позитивне ћелије у мм² у групи дифузног карцинома и контролној групи

5.3.4. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на демографске и клиничко-патолошке параметре

На Табели 24. приказане су експресије упоређиваних биомаркера Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на пол пацијената.

Експресија наведених маркера (расподјела индекса експресије или заступљености позитивних ћелија у мм²), у оквиру испитиваних група, не разликује се значајно према полу испитаника.

Табела 24. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на пол

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца					ДИФУЗНИ карцином желуца				
	пол				р	пол				р
	М		Ж			М		Ж		
	н	%	н	%	н	%	н	%		
Ki67										
Низак	15	45.5	8	66.7	0.208	9	45.0	13	52.0	0.641
Висок	18	54.5	4	33.3		11	55.0	12	48.0	
p53										
0	10	30.3	4	33.3	0.673	9	45.0	12	48.0	0.268
Низак	5	15.2	3	25.0		2	10.0	0	0.0	
Висок	18	54.5	5	41.7		9	45.0	13	52.0	
Stathmin										
0	12	36.4	5	41.7	0.280	3	15.0	3	12.0	0.924
Низак	6	18.2	0	0.0		7	35.0	10	40.0	
Висок	15	45.5	7	58.3		10	50.0	12	48.0	
E-cadherin										
(-)	12	36.4	1	8.3	0.136	16	80.0	21	84.0	0.513
(+)	20	60.6	11	91.7		4	20.0	4	16.0	
(++)	1	3.0	0	0.0		-	-	-	-	
Vcl-2										
(-)	16	48.5	4	33.3	0.090	13	65.0	13	52.0	0.169
(+)	13	39.4	3	25.0		7	35.0	8	32.0	
(++)	4	12.1	5	41.7		0	.0	4	16.0	

*сигнификантна разлика $p < 0.05$, χ^2 -тест, Fisher's exact- тест

На основу претходне, упоредне анализе експресија маркера према полу и старости испитаника у групама по типу карцинома, у наставку су анализирани експресије маркера у односу на старосну доб до 60 и преко 60 година. (Табела 25).

Не постоји значајна разлика у експресији Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Bcl-2 у оквиру групе са интестиналним, као и у оквиру групе са дифузним карциномом желуца.

Табела 25. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Bcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на старосну доб

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца					ДИФУЗНИ карцином желуца				
	године старости				p	године старости				p
	до 60		преко 60			до 60		преко 60		
	n	%	n	%		n	%	n	%	
Ki67										
Низак	4	57.1	19	50.0	0.728	12	52.2	10	45.5	0.652
Висок	3	42.9	19	50.0		11	47.8	12	54.5	
p53										
0	4	57.1	10	26.3	0.261	13	56.5	8	36.4	0.387
Низак	1	14.3	7	18.4		1	4.3	1	4.5	
Висок	2	28.6	21	55.3		9	39.1	13	59.1	
Stathmin										
0	3	42.9	14	36.8	0.528	3	13.0	3	13.6	0.982
Низак	0	.0	6	15.8		9	39.1	8	36.4	
Висок	4	57.1	18	47.4		11	47.8	11	50.0	
E-cadherin										
(-)	2	28.6	11	28.9	0.908	18	78.3	19	86.4	0.477
(+)	5	71.4	26	68.4		5	21.7	3	13.6	
(++)	0	.0	1	2.6						
Bcl-2										
(-)	3	42.9	17	44.7	0.876	13	56.5	13	59.1	0.059
(+)	3	42.9	13	34.2		10	43.5	5	22.7	
(++)	1	14.3	8	21.1		0	.0	4	18.2	

*сигнификантна разлика $p < 0.05$, χ^2 -тест, Fisher's exact-тест

На Табели 26. приказане су експресије Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Bcl-2 у испитиваним групама у односу на макроскопски тип тумора.

Експресија наведених маркера (расподјела индекса или заступљености позитивних ћелија у mm^2), у оквиру испитиваних група, не разликује се значајно према макроскопском типу тумора.

Табела 26. Експресија Ki67, p53, Stathmin 1, E-cadherina и Bcl-2 у интестиналном и дифузног карциному желуца у односу на макроскопски тип

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца						ДИФУЗНИ карцином желуца							
	Макроскопски тип						p	Макроскопски тип						p
	1		2		3			1		2		3		
	н	%	н	%	н	%		н	%	н	%	н	%	
Ki67														
Низак	14	56.0	7	46.7	2	40.0	0.739	13	46.4	8	61.5	1	25.0	0.404
Висок	11	44.0	8	53.3	3	60.0		15	53.6	5	38.5	3	75.0	
p53														
0	6	24.0	7	46.7	1	20.0	0.631	14	50.0	5	38.5	2	50.0	0.925
Низак	5	20.0	2	13.3	1	20.0		1	3.6	1	7.7	0	.0	
Висок	14	56.0	6	40.0	3	60.0		13	46.4	7	53.8	2	50.0	
Stathmin 1														
0	7	28.0	9	60.0	1	20.0	0.241	4	14.3	2	15.4	0	.0	0.755
Низак	3	12.0	2	13.3	1	20.0		10	35.7	6	46.2	1	25.0	
Висок	15	60.0	4	26.7	3	60.0		14	50.0	5	38.5	3	75.0	
E-cadherin														
(-)	8	32.0	2	13.3	3	60.0	0.207	24	85.7	9	69.2	4	100.0	0.273
(+)	17	68.0	12	80.0	2	40.0		4	14.3	4	30.8	0	.0	
(++)	0	0.0	1	6.7	0	0.0								
Bcl-2														
(-)	8	32.0	8	53.3	4	80.0	0.268	17	60.7	6	46.2	3	75.0	0.769
(+)	10	40.0	5	33.3	1	20.0		9	32.1	5	38.5	1	25.0	
(++)	7	28.0	2	13.3	0	0.0		2	7.1	2	15.4	0	.0	

1 - улцерозни, улцеро-инфилтративни; 2- вегетантни, вегетантно-инфилтративни, инфилтративни; 3 – улцер-вегетантни

На Табели 26. приказане су експресије Ki67, p53, Stathmin 1, E-cadherina и Bcl-2 у испитиваним групама у односу на локализацију тумора.

Код интестиналног карцинома желуца разматране експресије нису сигнификантно различите у односу на локализацију тумора.

Индекс пролиферације Ki67 је висок у око двије трећине случајева (око 67%) када је лоциран у горњој половини желуца, што је значајно више у односу на низак индекс (χ^2 -тест, $p=0.025$). Када је овај индекс висок и лоциран у доњој половини желуца (40% случајева, $p=0.273$), тада се не разликује значајно од ниског индекса на овој локализацији.

Упоређење између експресије ниског и високог индекса Ki67 у односу на локализацију тумора показује да се ове групе сигнификантно не разликују на усвојеном нивоу поузданости ($p=0.092>0.05$). Треба примијетити да је од свих упоређиваних експресија у оквиру интестиналног карцинома по његовој локацији, Ki67 најближи прагу статистичке значајности.

Експресије већине разматраних индекса и степена експресија је слична, односно без статистички значајне разлике у односу на локализацију дифузног карцинома желуца.

Једино се E-cadherin умјерена експресија значајно разликује на начин да је у око 29% случајева забиљежена само при локализацији тумора у доњој половини желуца. Истовремено, у највећем броју случајева експресије E-cadherin-a (71-100%) нема, или је безначајно мала, при било којој локализацији тумора.

Табела 27. Експресија Ki67, p53, Stathmin 1, E-cadherin и Bcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на локализацију

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца				p	ДИФУЗНИ карцином желуца				p
	Локализација					Локализација				
	горња половина желуца		доња половина желуца			горња половина желуца		доња половина желуца		
	н	%	н	%		н	%	н	%	
Ki67										
Низак	5	33.3	18	60.0	0.092	8	47.1	14	50.0	0.546
Висок	10	66.7	12	40.0		9	52.9	14	50.0	
p53										
0	2	13.3	12	40.0	0.163	9	52.9	12	42.9	0.481
Низак	4	26.7	4	13.3		0	.0	2	7.1	
Висок	9	60.0	14	46.7		8	47.1	14	50.0	
Stathmin										
0	6	40.0	11	36.7	0.165	2	11.8	4	14.3	0.927
Низак	0	.0	6	20.0		7	41.2	10	35.7	
Висок	9	60.0	13	43.3		8	47.1	14	50.0	
E-cadherin										
(-)	4	26.7	9	30.0	0.358	17	100.0	20	71.4	0.015 *
(+)	10	66.7	21	70.0		0	.0	8	28.6	
(++)	1	6.7	0	.0						
Bcl-2										
(-)	9	60.0	11	36.7	0.329	10	58.8	16	57.1	0.825
(+)	4	26.7	12	40.0		5	29.4	10	35.7	
(++)	2	13.3	7	23.3		2	11.8	2	7.1	

*сигнификантна разлика $p < 0.05$, χ^2 -тест, Fisher's exact- тест

Сигнификантна разлика у експресији Ki67, p53 и E-cadherin-a доказује се у односу на хистолошки градус интестиналног карцинома желуца. (Табела 28).

Највећи број случајева ниског индекса експресије Ki67 (око 64%, $p=0.106$) код овог типа карцинома распоређен је у умјерено диферентованом, а значајно већи број случајева високог индекса експресије (око 78%, $p=0.033 < 0.05$) у слабо диферентованом интестиналном карциному.

У експресији p53 у највећем броју случајева није нађена експресија (око 42%), или је индекс експресије био висок (око 39%), без значајне разлике ($p=0.250$), у умјерено диферентованом интестиналном карциному. Индекс експресије p53 је био висок када је

интестинални карцином био слабо диферентован у значајном броју случајева (око 79% случајева, $p=0.002$). У томе се индекс експресије p53, значајно разликује по хистолошком градусу у интестиналном карциному.

Умјерена експресија E-cadherina значајно је заступљена у умјерено диферентованом интестиналном карциному (81%, $p=0.001$).

Одсуство експресије E-cadherina у 50% и 43% његове умјерене експресије, (што није значајна разлика са $p=0.109$), у слабо диферентованом интестиналном карциному, чине експресију овог маркера сигнификатно различитом у односу на хистолошки градус.

Нема значајне разлике у индексу експресије Stathmina 1 према хистолошком градусу интестиналног карцинома, док је експресија Vcl-2 на тек нешто изнад границе статистичке значајности.

Сигнификантна разлика у експресији свих упоређиваних маркера доказује се у односу на хистолошки градус дифузног карцинома желуца. (Табела 28).

У 100% случајева ниског индекса експресије Ki67 у дифузном карциному распоређено је у умјерено диферентованом дифузном карциному. Већи број случајева високог индекса експресије (око 62%, без значајне разлике у односу на низак - око 38%, $p=0.139$) је у слабо диферентованом дифузном карциному.

Није нађена експресија p53 у 100% случајева у умјерено диферентованом дифузном карциному. Експресија p53 је била висока када је овај тип тумора био слабо диферентован у око 60% случајева, а у 35% случајева позитивне ћелије нису утврђене при овом хистолошком градусу ($p=0.128>0.05$). У томе се експресија p53, значајно разликује по хистолошком градусу дифузног тумора.

Већа учесталост одсуства експресије Stathmin 1 позитивних ћелија у умјерено диферентованом дифузном карциному у односу на ниску експресију која је забиљежена само у 2 случаја није значајна разлика (75% према 25%, $p=0.128$). Висок и низак индекс Stathmina 1 заступљени су без статистички значајне разлике (60% према 40%, $p=0.250$), у слабо диферентованом дифузном карциному. У томе се експресије Stathmina 1 према хистолошком градусу значајно разликују.

Умјерена експресија E-cadherina заступљена је у већем броју случајева (око 62%, без значајне разлике у односу на одсуство експресије - око 38%, $p=0.480$) у умјерено диферентованом дифузном карциному. Сигнификантно је велико одсуство експресије E-cadherina (92%, $p<0,001$) у слабо диферентованом дифузном карциному желуца.

Умјерена и изражена експресија Vcl-2 (око 62% и 25%, без значајне разлике $p=0.257$) заступљени су код умјерено диферентованог дифузног карцинома. Сигнификантно одсуство експресије и умјерена експресија Vcl-2 (око 68% према 27%, $p=0.011<0.05$), заступљени су у слабо диферентованом дифузном карциному желуца. У томе се експресије Vcl-2, према умјереном и слабо диферентованом дифузном карциному, значајно разликују.

Табела 28. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на хистолошки градус

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца				p	ДИФУЗНИ карцином желуца				p
	Хистолошки градус					Хистолошки градус				
	умјерено диферентован		слабо диферентован			умјерено диферентован		слабо диферентован		
	н	%	н	%		н	%	н	%	
Ki67										
Низак	20	64.5	3	21.4	0.007*	8	100.0	14	37.8	0.001*
Висок	11	35.5	11	78.6		0	.0	23	62.2	
p53										
0	13	41.9	1	7.1	0.032*	8	100.0	13	35.1	0.004*
Низак	6	19.4	2	14.3		0	.0	2	5.4	
Висок	12	38.7	11	78.6		0	.0	22	59.5	
Stathmin 1										
0	11	35.5	6	42.9	0.209	6	75.0	0	.0	<0.001*
Низак	6	19.4	0	.0		2	25.0	15	40.5	
Висок	14	45.2	8	57.1		0	.0	22	59.5	
E-cadherin										
(-)	6	19.4	7	50.0	0.025*	3	37.5	34	91.9	<0.001*
(+)	25	80.6	6	42.9		5	62.5	3	8.1	
(++)	0	.0	1	7.1						
Vcl-2										
(-)	11	35.5	9	64.3	0.051	1	12.5	25	67.6	0.012*
(+)	11	35.5	5	35.7		5	62.5	10	27.0	
(++)	9	29.0	0	.0		2	25.0	2	5.4	

*сигнификантна разлика $p < 0.05$, χ^2 -тест, Fisher's exact-тест

Експресије Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на присуство инвазије лимфних судова приказане су на Табели 29.

Експресија индекса пролиферације Ki67 сигнификантно се разликује у односу на присуство инвазије лимфних судова или у њеном одсуству, како код интестиналног тако и код дифузног карцинома желуца.

У оба типа тумора желуца у 100% случајева, при којима није идентификована инвазија лимфних судова, индекс пролиферације је био низак.

У случајевима интестиналног карцинома при присутној инвазији лимфних судова индекс експресије Ki67 је био у већем броју случајева висок (око 65%), док је у 35% случајева био низак. Статистичким тестирањем унутар ове групе се доказује да ова разлика није значајна на усвојеном нивоу поузданости ($p = 0.08 > 0.05$).

У случајевима дифузног карцинома при присутној инвазији лимфних судова индекс експресије Ki67 је био у значајно већем већем броју случајева висок (око 74%), док је у око 26% случајева био низак.

Индекс експресије p53 у односу на случајеве код којих није идентификована инвазија лимфних судова према случајевима гдје је инвазија присутна, не разликује се значајно код интестиналног карцинома желуца.

Индекс експресије p53 у односу на случајеве код којих није идентификована инвазија лимфних судова према случајевима гдје је инвазија присутна, сигнификантно се разликује код дифузног карцинома желуца. У значајно већем броју случајева није било експресије p53 када код дифузног карцинома није идентификована инвазија лимфних судова (око 86% случајева, $p < 0.001$). Висок индекс експресије p53 у сигнификантно великом броју био је у присуству инвазије лимфних судова код дифузног карцинома желуца (око 68% случајева, $p < 0.001$).

Индекс експресије Stathmina 1 у односу на случајеве код којих није идентификована инвазија лимфних судова према случајевима гдје је инвазија присутна, не разликује се значајно код интестиналног карцинома желуца.

Индекс експресије Stathmina 1 у односу на случајеве код којих није идентификована инвазија лимфних судова према случајевима гдје је инвазија присутна, сигнификантно се разликује код дифузног карцинома желуца. У већем броју случајева (око 64%) индекс експресије Stathmina 1 био је низак, а у око 36% случајева није било експресије (без значајне разлике, $p = 285$), када код дифузног тумора није идентификована инвазија лимфних судова. Висока експресија Stathmina 1 у сигнификантно великом броју била је у присуству инвазије лимфних судова дифузног карцинома желуца (71% случајева, $p < 0.001$).

Експресија E-cadherin-a сигнификантно се разликује у односу на присуство инвазије лимфних судова или у њеном одсуству, како код интестиналног тако и код дифузног карцинома желуца.

У случајевима интестиналног карцинома када инвазија лимфних судова није идентификована умјерена експресија E-cadherina била је у 100% случајева.

У случајевима интестиналног карцинома при присутној инвазији лимфних судова експресија E-cadherina је била у већем броју случајева умјерена (око 59%) или је у 38% случајева није било, што није значајна разлика ($p = 223$).

Код дифузног карцинома када инвазија лимфних судова није идентификована одсуство експресије или умјерена експресија E-cadherina била је у једнаком броју случајева присутна. Када је код овог карцинома била присутна инвазија лимфних судова експресије E-cadherina није било у сигнификантно великом броју случајева (око 97% или скоро сви случајеви).

Експресија Vcl-2-a сигнификантно се разликује у односу на присуство инвазије лимфних судова или у њеном одсуству, како код интестиналног тако и код дифузног карцинома желуца.

У случајевима интестиналног карцинома када инвазија лимфних судова није идентификована изражена експресија Vcl-2 нађена је у значајно већем броју случајева (око 73%, $p = 0.020 < 0.05$). Када је инвазија била присутна тада нема значајне разлике у одсуству експресије или умјереној експресији Vcl-2 ($p = 0.384$).

Код дифузног карцинома са присутном инвазијом лимфних судова одсуство експресије Vcl-2-a нађено је у значајно већем броју случајева (око 81%, $p = 0.001$). Када инвазија није идентификована тада нема значајне разлике у умјереној и израженој експресији (око 64% према 29%, $p = 0.116$).

Табела 29. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl-2 у интестиналном и дифузној карциному желуца у односу на инвазију лимфних судова

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца					ДИФУЗНИ карцином желуца						
	Инвазија лимфних судова					p	Инвазија лимфних судова					
	није идентификована		присутна				није идентификована		присутна			p
	н	%	н	%			н	%	н	%		
Ki67												
Низак	11	100.0	12	35.3		<0.001*	14	100.0	8	25.8		<0.001*
Висок	0	.0	22	64.7			0	.0	23	74.2		
p53												
0	5	45.5	9	26.5		0.453	12	85.7	9	29.0		0.001*
Низак	2	18.2	6	17.6			1	7.1	1	3.2		
Висок	4	36.4	19	55.9			1	7.1	21	67.7		
Stathmin												
0	5	45.5	12	35.3		0.622	5	35.7	1	3.2		<0.001*
Низак	2	18.2	4	11.8			9	64.3	8	25.8		
Висок	4	36.4	18	52.9			0	.0	22	71.0		
E-cadherin												
(-)	0	.0	13	38.2		0.037*	7	50.0	30	96.8		<0.001*
(+)	11	100.0	20	58.8			7	50.0	1	3.2		
(++)	0	.0	1	2.9								
Vcl-2												
(-)	1	9.1	19	55.9		<0.001*	1	7.1	25	80.6		<0.001*
(+)	2	18.2	14	41.2			9	64.3	6	19.4		
(++)	8	72.7	1	2.9			4	28.6	0	.0		

*сигнификантна разлика $p < 0.05$, χ^2 -тест, Fisher's exact-тест

Индекс експресије Ki67, p53 и Stathmina 1 се значајно не разликују, док су експресије E-cadherina и Vcl-2 сигнификантно различите у односу на присутност инвазије крвних судова код интестиналног карцинома желуца. (Табела 30.)

Значајност разлике експресије E-cadherina последица је значајне заступљености умјерене експресије овог маркера (82%, $p < 0.05$) када инвазија крвних судова није идентификована, код интестиналног карцинома желуца. Истовремено, када је инвазија присутна онда нема значајне разлике између броја случајева одсуства експресије и умјерене експресије E-cadherina (50% према 45% случајева, $p = 0.819$).

Експресија Vcl-2 једнако је заступљена као умјерена и висока (36% случајева) када није идентификована инвазија крвних судова, што није значајно више у односу на учесталост одсуства експресије овог маркера (28%, $p = 0.852$). Када је инвазија крвних судова присутна, онда преовлађује одсуство експресије Vcl-2 (65% случајева), али не значајно више од умјерене експресије. Ово је, међутим, значајна разлика у експресији Vcl-2 према присуству инвазије крвних судова код интестиналног тумора желуца.

Индекси експресије Ki67, Stathmina 1 и Vcl-2 се сигнификантно разликују, док се експресије p53 и E-cadherina не разликују у односу на присутност инвазије крвних судова код дифузног карцинома желуца. (Табела 30.).

Када инвазија крвних судова није идентификована код дифузних карцинома тада низак индекс експресије Ki67 преовлађује (око 67%), што у овој расподјели није значајно више од око трећине случајева високог индекса експресије Ki67. Када је инвазија крвних судова присутна у сигнификантном броју (око 78%), преовлађује висок индекс експресије Ki67. (p=0.018).

Експресија ниског индекса Stathmin-а 1 је у највећем броју случајева (око 52%) када није идентификована инвазија крвних судова, што није значајно у односу на учешће високог или одсуство овог индекса. (p=0.097). Када је инвазија крвних судова присутна у сигнификантном броју (око 78%), преовлађује висок Stathmina 1. (p=0.018).

Умјерена експресија Vcl-2 је присутна у највећем броју случајева (око 48%) када није идентификована инвазија крвних судова, што није значајно у односу на одсуство или високу експресију овог маркера, у тим условима. (p=0.097). Када је инвазија крвних судова присутна, у сигнификантном броју (око 89%), преовлађује одсуство експресије Vcl-2. (p=0.001).

Табела 30. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на инвазију крвних судова

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца					ДИФУЗНИ карцином желуца				
	Инвазија крвних судова				p	Инвазија крвних судова				p
	није идентификована		присутна			није идентификована		присутна		
	н	%	н	%		н	%	н	%	
Ki67										
Низак	16	64.0	7	35.0	0.053	18	66.7	4	22.2	0.003*
Висок	9	36.0	13	65.0		9	33.3	14	77.8	
p53										
0	10	40.0	4	20.0	0.230	16	59.3	5	27.8	0.116
Низак	5	20.0	3	15.0		1	3.7	1	5.6	
Висок	10	40.0	13	65.0		10	37.0	12	66.7	
Stathmin										
0	13	52.0	4	20.0	0.082	5	18.5	1	5.6	0.007*
Низак	3	12.0	3	15.0		14	51.9	3	16.7	
Висок	9	36.0	13	65.0		8	29.6	14	77.8	
E-cadherin										
(-)	3	12.0	10	50.0	0.007*	20	74.1	17	94.4	0.080
(+)	22	88.0	9	45.0		7	25.9	1	5.6	
(++)	0	.0	1	5.0						
Vcl-2										
(-)	7	28.0	13	65.0	0.005*	10	37.0	16	88.9	0.002*
(+)	9	36.0	7	35.0		13	48.1	2	11.1	
(++)	9	36.0	0	.0		4	14.8	0	.0	

*сигнификантна разлика p<0.05, χ^2 -тест, Fisher's exact- тест

Према метастазама у лимфним чворовима експресије Ki67, E-cadherina и Vcl-2 се сигнификантно разликују када је у питању интестинални карцином желуца, док се експресије свих упоређиваних маркера сигнификантно разликују према метастазама у лимфним чворовима код дифузног карцинома желуца. (Табела 31.).

Експресија пролиферативног антигена Ki67 у односу на метастазе у лимфним чворовима је очигледна, а према оба типа карцинома желуца и скоро идентична. Висока сигнификантност разлика у експресији Ki67 ($p < 0.001$), последица је заступљености од 100% случајева ниских индекса у одсуству метастаза и учесталости од 92%-100% високих индекса пролиферације када су метастазе биле у 7 или више лимфних чворова, код оба типа карцинома желуца.

Сличност расподјеле ниских и високих индекса Ki67 код присутних метастаза од 1-6 чворова, такође је уочљива код оба типа карцинома желуца (47-53% и 45-54%), без статистички значајне разлике. ($p = 0.819$ – интестинални, $p = 0.763$ – дифузни карцином).

Индекс експресије p53 није значајно различит у односу на присуство метастаза у лимфним чворовима у случајевима интестиналног, док код дифузног карцинома желуца показује сигнификантну разлику у односу на присуство и број метастазама захваћених лимфних чворова.

Одсуство експресије p53 присутно је у значајно великом броју када нема метастаза. У истом броју случајева присутан је висок индекс када постоје метастазе у 7 или више чворова, код дифузног тумора (око 76%, $p = 0.012$).

Сличност расподјеле одсуства експресије и високих индекса p53 код присутних метастаза од 1-6 чворова, доказује се и у овом типу карцинома желуца (45-54%), без статистички значајне разлике ($p = 0.763$).

Статистичким тестирањем између група доказује се да нема значајне разлике у експресији Stathmin-a 1 према присуству и броју метастазама захваћених лимфних чворова, код интестиналног карцинома желуца.

Висок индекс експресије Stathmin-a 1 је присутан у 100% случајева код дифузног карцинома желуца када је метастазама захваћено 7 и више лимфних чворова. Низак индекс присутан је у већем броју случајева од одсуства експресије овог маркера када нема метастаза код овог типа тумора, али разлика није значајна ($p = 0.225$).

Нема значајне разлике у одсуству експресије Stathmin-a 1, или високом индексу експресије овог маркера (54.5% према 45.5%, $p = 0.763$), када је код дифузног карцинома присутна метастаза у 1- 6 лимфних чворова.

Умјерена експресија E-cadherin-a постоји у 100% случајева када нису присутне метастазе у лимфним чворовима. Када су метастазе присутне, било у интервалу до 6 или 7 и више лимфних чворова, слична је експресија E-cadherin-a са нешто већим учешћем умјерене експресије у односу на њено одсуство, али разлика унутар ових група није значајна. ($p = 0.491$ и $p = 0.116$).

Сигнификантно је велики број случајева одсуства експресије E-cadherin-a (94%-100% случајева), када је код дифузног карцинома присутна метастаза макар у једном лимфном чвору.

Када нема метастаза одсуство експресије E-cadherin-a или умјерена експресија једнако су вјероватни, односно без значајне разлике ($p = 0.467$).

Експресија Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному показује извјесне сличности. Сличност се огледа у томе да у обје врсте карцинома, у присуству метастаза у 7 и више лимфних чворова, постоји одсуство експресије овог маркера у значајно великом броју (77-100% случајева). Код одсуства метастаза, са сличном учесталошћу, код

интестиналног карцинома присутна је изражена експресија (око 61%), а у дифузном умјерена експресија Vcl-2 (око 58%).

Табела 31. Експресија Ki67, p53, Stathmin 1, E-cadherin и Vcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на метастазе у лимфним чворовима

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца						P	ДИФУЗНИ карцином желуца						P
	Метастазе у лимфним чворовима (број)							Метастазе у лимфним чворовима (број)						
	нема		1-6		7 и више			нема		1-6		7 и више		
	н	%	н	%	н	%		н	%	н	%	н	%	
Ki67														
Низак	13	100.0	9	47.4	1	7.7	<0.001*	17	100.0	5	45.5	0	.0	<0.001*
Висок	0	.0	10	52.6	12	92.3		0	.0	6	54.5	17	100.0	
p53														
0	5	38.5	6	31.6	3	23.1	0.582	13	76.5	5	45.5	3	17.6	0.011*
Низак	3	23.1	4	21.1	1	7.7		1	5.9	0	.0	1	5.9	
Висок	5	38.5	9	47.4	9	69.2		3	17.6	6	54.5	13	76.5	
Stathmin 1														
0	6	46.2	8	42.1	3	23.1	0.544	6	35.3	0	.0	0	.0	<0.001*
Низак	2	15.4	3	15.8	1	7.7		11	64.7	6	54.5	0	.0	
Висок	5	38.5	8	42.1	9	69.2		0	.0	5	45.5	17	100.0	
E-cadherin														
(-)	0	.0	8	42.1	5	38.5	0.035*	10	58.8	11	100.0	16	94.1	0.006*
(+)	13	100.0	11	57.9	7	53.8		7	41.2	0	.0	1	5.9	
(++)	0	.0	0	.0	1	7.7								
Vcl-2														
(-)	1	7.7	9	47.4	10	76.9	<0.001*	3	17.6	6	54.5	17	100.0	<0.001*
(+)	4	30.8	10	52.6	2	15.4		10	58.8	5	45.5	0	.0	
(++)	8	61.5	0	.0	1	7.7		4	23.5	0	.0	0	.0	

*сигнификантна разлика $p < 0.05$, χ^2 -тест, Fisher's exact-тест

Већина испитиваних маркера не показује статистички значајну разлику у експресији према присуству удаљених метастаза у интестиналном карциному. (Табела 32.).

Изузетак је E-cadherin, са умјереном експресијом у сигнификантном броју случајева (око 74%, $p = 0.001$), у случајевима када удаљене метастазе нису идентификоване. Наспрам тога су сви случајеви (100%) када су удаљене метастазе биле присутне и када експресије E-cadherin позитивних ћелија није ни било.

Индекси експресије Ki67 и p53 су значајно различити према случајевима у којима нису идентификоване удаљене метастазе у односу на случајеве гдје су оне присутне, у дифузном карциному желуца.

Код присутних удаљених метастаза овог карцинома индекс пролиферације Ki67 у 100% случајева је висок, а када удаљене метастазе нису идентификоване, не постоји значајна разлика у експресији овог индекса (55% - низак према 45% - висок, $p = 0.527$).

Када удаљене метастазе дифузног карцинома нису идентификоване, одсуство експресије p53 не разликује се значајно од броја случајева високих индекса експресије (52% према 45%, $p=0.631$). Код присутних удаљених метастаза индекс експресије p53 је у већини случајева висок (80% према 20% низак, $p=0.180$).

Табела 32. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Bcl-2 у интестиналном и дифузног карциному желуца у односу на удаљене метастазе

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца				p	ДИФУЗНИ карцином желуца				p
	Удаљене метастазе					Удаљене метастазе				
	нису идентификоване		Присутне			нису идентификоване		присутне		
	н	%	н	%		н	%	н	%	
Ki67										
Низак	23	54.8	0	.0	0.067	22	55.0	0	.0	0.020*
Висок	19	45.2	3	100.0		18	45.0	5	100.0	
p53										
0	14	33.3	0	.0	0.452	21	52.5	0	.0	0.030*
Низак	7	16.7	1	33.3		1	2.5	1	20.0	
Висок	21	50.0	2	66.7		18	45.0	4	80.0	
Stathmin 1										
0	17	40.5	0	.0	0.186	6	15.0	0	.0	0.053
Низак	6	14.3	0	.0		17	42.5	0	.0	
Висок	19	45.2	3	100.0		17	42.5	5	100.0	
E-cadherin										
(-)	10	23.8	3	100.0	0.019*	32	80.0	5	100.0	0.270
(+)	31	73.8	0	.0		8	20.0	0	.0	
(++)	1	2.4	0	.0						
Bcl-2										
(-)	18	42.9	2	66.7	0.605	22	55.0	4	80.0	0.527
(+)	15	35.7	1	33.3		14	35.0	1	20.0	
(++)	9	21.4	0	.0		4	10.0	0	.0	

*сигнификантна разлика $p<0.05$, χ^2 -тест, Fisher's exact- тест

Већина испитиваних експресија: p53, Stathmina 1, E-cadherina и Bcl-2, сем Ki67, не показују статистички значајну разлику према патолошком стадијуму у интестиналном карциному. Већина испитиваних експресија, сем E-cadherina, показује значајну разлику према патолошком стадијуму у дифузног карциному. (Табела 33.).

Индекс експресије Ki67 у интестиналном и дифузног карциному желуца према групама патолошког стадијума је сличан, али је статистичка значајност разлика између упоређиваних стадијума у дифузног карциному већа ($p<0.001$ према 0.002).

У оба типа карцинома низак индекс експресије Ki67 је у 100% случајева I и II патолошког стадијума.

У интестиналном карциному, при патолошком стадијуму III-IV, нема статистички значајне разлике у учесталости ниског и високог индекса експресије Ki67, иако је висок индекс заступљен у већини случајева (око 60% према 40%, $p=0.250$).

У дифузном карциному, при патолошком стадијуму III-IV, постоји статистички значајна разлика у учесталости ниског и високог индекса експресије Ki67 (око 70% према 30%, $p=0.024<0.05$).

У дифузном карциному, при патолошком стадијуму I-II не постоји експресија p53 у значајно великом броју случајева (око 92%, $p=0.004$), а у патолошком стадијуму III-IV постоји статистички значајна разлика у учесталости високог индекса експресије у односу на одсуство експресије p53 (око 64% према 30%, $p=0.001$).

Индекс експресије Stathmin-a 1 у патолошком стадијуму дифузног карцинома желуца I-II је у већини случајева низак (око 58%), што се не разликује значајно у односу на одсуство експресије (око 42%, $p=0.564$). У патолошком стадијуму III-IV постоји сигнификантна заступљеност високих индекса експресије Stathmin-a 1 (око 67%, $p=0.034<0.05$).

Експресија Vcl-2 је у I-II патолошком стадијуму дифузног карцинома желуца у већини случајева умјерена, затим изражена, или је нема у најмањем броју случајева, што се не разликује значајно ($p=0.174$). У патолошком стадијуму III-IV постоји сигнификантан број случајева без експресије Vcl-2 (око 73%, $p<0.001$).

Табела 33. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Vcl-2у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на патолошки стадијум

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца				p	ДИФУЗНИ карцином желуца				p
	Патолошки стадијум					Патолошки стадијум				
	I-II		III-IV			I-II		III-IV		
	н	%	н	%		н	%	н	%	
Ki67										
Низак	8	100.0	15	40.5	0.002*	12	100.0	10	30.3	<0.001*
Висок	0	.0	22	59.5		0	.0	23	69.7	
p53										
0	3	37.5	11	29.7	0.682	11	91.7	10	30.3	0.001*
Низак	2	25.0	6	16.2		0	.0	2	6.1	
Висок	3	37.5	20	54.1		1	8.3	21	63.6	
Stathmin 1										
0	3	37.5	14	37.8	0.996	5	41.7	1	3.0	<0.001*
Низак	1	12.5	5	13.5		7	58.3	10	30.3	
Висок	4	50.0	18	48.6		0	.0	22	66.7	
E-cadherin										
(-)	2	25.0	11	29.7	0.852	9	75.0	28	84.8	0.445
(+)	6	75.0	25	67.6		3	25.0	5	15.2	
(++)	0	.0	1	2.7						
Vcl-2										
(-)	3	37.5	17	45.9	0.051	2	16.7	24	72.7	0.002*
(+)	1	12.5	15	40.5		7	58.3	8	24.2	
(++)	4	50.0	5	13.5		3	25.0	1	3.0	

*сигнификантна разлика $p<0.05$, χ^2 -тест, Fisher's exact-тест

Већина испитиваних експресија: p53, Stathmina 1, E-cadherina и Bcl-2, сем Ki67, не показују статистички значајну разлику према стадијуму туморске болести у интестиналном карциному.

Све испитиване експресије маркера показују значајну разлику према стадијуму туморске болести у дифузном карциному. (Табела 34.).

У значајно већем броју случајева у I и II стадијуму туморске болести интестиналног карцинома желуца индекс експресије Ki67 је био низак (83-89%, $p=0.001$), а у III и IV стадијуму, у сигнификантном броју случајева, био је висок (95%, $p<0.0010$). У 100% случајева I и II стадијума туморске болести дифузног карцинома желуца индекс експресије Ki67 је био низак, а у III и IV стадијуму, у 100% случајева, био је висок.

Експресија p53 била је одсутна у 100% случајева I стадијума. У II стадијуму није било разлике у одсуству или високом индексу p53 ($p=0.527$), а сигнификантна је учесталост високих индекса експресије p53 у III и IV стадијуму туморске болести дифузног карцинома желуца (78%, $p=0.003$).

У I стадијуму туморске болести одсуство експресије Stathmin-a 1 или низак индекс нису значајно различито заступљени ($p=0.763$). У II стадијуму значајна је учесталост ниског индекса (91%, $p=0.007$), а у III и IV стадијуму туморске болести дифузног карцинома желуца сигнификантни су високи индекси експресије Stathmin-a 1 (око 96%, $p<0.001$).

У I стадијуму туморске болести умјерена експресија Bcl-2 преовлађује, али не значајно у односу на изражену експресију ($p=0.132$). У II стадијуму већа заступљеност умјерене није значајна у односу на одсуство експресије Bcl-2 ($p=0.366$). У III и IV стадијуму туморске болести дифузног карцинома желуца сигнификантно је одсуство експресије Bcl2 (око 91%, $p<0.001$).

Табела 34. Експресија Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Bcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца у односу на стадијум туморске болести

маркер	ИНТЕСТИНАЛНИ карцином желуца						p	ДИФУЗНИ карцином желуца						p
	Стадијум туморске болести							Стадијум туморске болести						
	I		II		III-IV			I		II		III-IV		
	н	%	н	%	н	%		н	%	н	%	н	%	
Ki67														
Низак	5	83.3	17	89.5	1	5.0	<0.001*	11	100.0	11	100.0	0	.0	<0.001*
Висок	1	16.7	2	10.5	19	95.0		0	.0	0	.0	23	100.0	
p53														
0	3	50.0	6	31.6	5	25.0	0.760	11	100.0	6	54.5	4	17.4	<0.001*
Низак	1	16.7	4	21.1	3	15.0		0	.0	1	9.1	1	4.3	
Висок	2	33.3	9	47.4	12	60.0		0	.0	4	36.4	18	78.3	
Stathmin 1														
0	2	33.3	8	42.1	7	35.0	0.529	5	45.5	1	9.1	0	.0	<0.001*
Низак	1	16.7	4	21.1	1	5.0		6	54.5	10	90.9	1	4.3	
Висок	3	50.0	7	36.8	12	60.0		0	.0	0	.0	22	95.7	
E-cadherin														
(-)	1	16.7	4	21.1	8	40.0	0.428	8	72.7	7	63.6	22	95.7	0.047*
(+)	5	83.3	15	78.9	11	55.0		3	27.3	4	36.4	1	4.3	
(++)	0	.0	0	.0	1	5.0								
Bcl-2														
(-)	1	16.7	7	36.8	12	60.0	0.017	1	9.1	4	36.4	21	91.3	<0.001*
(+)	1	16.7	8	42.1	7	35.0		7	63.6	6	54.5	2	8.7	
(++)	4	66.7	4	21.1	1	5.0		3	27.3	1	9.1	0	.0	

*сигнификантна разлика $p < 0.05$, χ^2 -тест, Fisher's exact-тест

5.3.5. Корелациона анализа клиничко-патолошких варијабли и Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina, Bcl-2 у интестиналном и дифузном карциному желуца

Анализа унакрсних расподјела хистопатолошких варијабли, затим и Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina, Bcl-2, у интестиналном и дифузном карциному желуца, показала је да постоје значајне и високо значајне везе у појединим узајамним односима.

На Табели 35. и 36. клиничко-патолошке варијабле које су анализирани и у претходним поглављима, приказане су у корелационој матрици, преко коефицијената корелације (кк) уз његову статистичку значајност (p).

Макроскопски тип тумора показује слабу зависност у односу на све остале хистопатолошке варијабле, у оба типа карцинома. Међутим, и слабе, позитивне корелативне зависности које су статистички значајне на усвојеном нивоу поузданости, разликују се у односу на тип карцинома. Док су сигнификантне међузависности макроскопског типа тумора у интестиналном карциному предидељене према метастазама у лимфним чворовима

и стадијуму туморске болести, у дифузном карциному оне се односе на удаљене метастазе и патолошки стадијум тумора. ($k_k=0.295 - 0.352$).

Сагласно резултатима претходних анализа клиничко-патолошких варијабли, локализација тумора не показује значајну повезаност ни са једним преосталим параметром, што се у корелационој анализи показује одсуством значајних коефицијената корелације.

Хистолошки градус је у интестиналном карциному желуца повезан слабим, али сигнификантним, позитивним коефицијентом корелације (од 0.307 до 0.398) са удаљеним метастазама, инвазијом лимфних судова, метастазама у лимфним чворовима и стадијумом туморске болести. У дифузном карциному све узајамне везе хистолошког градуса са већином истих варијабли (инвазија лимфних судова, метастазе у лимфним чворовима и стадијум туморске болести) су јаче и високо сигнификантне (од 0.520 до 0.566). За разлику од интестиналног, код овог типа тумора изостала је сигнификантност везе са удаљеним метастазама, али је повезаност са патолошким стадијумом високо значајна ($k_k=0.578$).

Инвазија лимфних судова корелира са осталим варијаблама хистопатолошког статуса на сличан начин између карцинома. Ипак, примјетно је и у овом случају да су “јаче” везе успостављене у оквиру дифузног карцинома желуца. Значајне, умјерене и позитивне корелације инвазије лимфних судова постоје према инвазији крвних судова, метастазама у лимфним чворовима, патолошким типу тумора и стадијуму туморске болести. У интестиналном и дифузном карциному прве двије корелације се крећу од 0.509 до 0.752. Изразитија је повезаност инвазије лимфних судова и патолошког стадијума (0.584 према 0.419), као и стадијума туморске болести (0.653 према 0.753), у дифузном у односу на интестинални карцином, што се види из величине коефицијента корелације и његове значајности.

Слична је ситуација у корелацији инвазије крвних судова према осталим варијаблама. Слабијим коефицијентима корелације у односу на инвазију лимфних чворова, инвазија крвних судова је у вези са метастазама у лимфним чворовима, удаљеним метастазама, патолошким стадијумом и стадијумом туморске болести. И у овом случају коефицијенти корелације у дифузном су виши и значајнији (0.424-0.542) него у интестиналном карциному желуца (0.299-0.389).

Метастазе у лимфним чворовима су у сигнификантној, али слабијој корелативној зависности ($k_k=0.333$), са удаљеним метастазама и то само у дифузном карциному, док у интестиналном карциному не постоји значајна зависност између ових параметара. Метастазе у лимфним чворовима су у интестиналном карциному у слабој (0.337) а у дифузном карциному у умјереној корелацији (0.530), која је високо сигнификантна са патолошким стадијумом тумора. Висок степен међузависности постоји између метастаза у лимфним чворовима и стадијума туморске болести код оба типа тумора (нарочито у дифузном карциному, $k_k=0.849$ -интестинални, $k_k=0.878$ -дифузни карцином.).

Удаљене метастазе су у нешто бољој корелацији са патолошким стадијумом тумора у интестиналном карциному ($k_k=0.575$ према 0.477 у дифузном карциному), Међутим, удаљене метастазе су у доброј, позитивној и сигнификантној корелацији (0.504) са стадијумом туморске болести у дифузном, док у интестиналном карциному нема сигнификантне везе овог пара варијабли.

Патолошки стадијум тумора је у умјереној, позитивној вези са стадијумом туморске болести у интестиналном карциному ($k_k=0.502$), док је у високој, позитивној и високо сигнификантној међузависности са стадијумом туморске болести у дифузном карциному ($k_k=0.822$)

Табела 35. Корелациона матрица – веза клиничко-патолошких варијабли и испитиваних маркера у интестиналном карциному желуца

варијабле	pol	starost	Ki67	p53	STM	E-Cadher	Bcl-2	MA tip	Lokal.	H. Grad	ILS	IKS	MET. lc	UD.M	pT	Stadijum	
Pol	kk	1.000	0.300	-0.188	-0.087	0.045	0.240	0.236	-0.038	-0.107	-0.188	-0.476	-0.236	-0.239	-0.161	-0.288	-0.252
	p	.	0.045*	0.217	0.570	0.771	0.112	0.119	0.804	0.486	0.216	0.001*	0.119	0.114	0.290	0.055	0.094
Starost	kk	0.300	1.000	-0.070	0.348	0.062	0.081	0.192	-0.020	-0.047	-0.144	-0.076	-0.052	-0.036	-0.148	-0.196	-0.011
	p	0.045*	.	0.646	0.019*	0.688	0.599	0.205	0.897	0.758	0.344	0.621	0.736	0.814	0.333	0.198	0.941
Ki67	kk	-0.188	-0.070	1	0.178	0.079	-0.119	-0.371	0.289	-0.251	0.399	0.556	0.288	0.756	0.273	0.503	0.722
	p	0.217	0.646	.	0.241	0.606	0.436	0.012*	0.054	0.096	0.007*	0.001*	0.055	0.001*	0.069	0.001*	0.001*
p53	kk	-0.087	0.348	0.178	1.000	0.295	-0.036	-0.255	-0.099	-0.199	0.391	0.186	0.255	0.243	0.132	0.163	0.189
	p	0.570	0.019*	0.241	.	0.049*	0.817	0.091	0.517	0.190	0.008*	0.222	0.091	0.107	0.389	0.285	0.213
STM	kk	0.045	0.062	0.079	0.295	1.000	-0.200	-0.190	-0.234	-0.078	0.033	0.127	0.326	0.286	0.260	0.108	0.200
	p	0.771	0.688	0.606	0.049*	.	0.187	0.212	0.122	0.611	0.832	0.406	0.029*	0.057	0.084	0.479	0.187
E-Cadher	kk	0.240	0.081	-0.119	-0.036	-0.200	1.000	0.316	-0.053	-0.081	-0.248	-0.326	-0.359	-0.315	-0.409	-0.216	-0.301
	p	0.112	0.599	0.436	0.817	0.187	.	0.035*	0.728	0.596	0.101	0.029*	0.015*	0.035*	0.005*	0.154	0.044*
Bcl-2	kk	0.236	0.192	-0.371	-0.255	-0.190	0.316	1.000	-0.399	0.213	-0.339	-0.612	-0.461	-0.612	-0.144	-0.237	-0.471
	p	0.119	0.205	0.012*	0.091	0.212	0.035*	.	0.007*	0.159	0.023*	0.001*	0.001*	0.001*	0.344	0.117	0.001*
MA tip	kk	-0.038	-0.020	0.289	-0.099	-0.234	-0.053	-0.399	1.000	-0.045	0.042	0.283	0.228	0.328	-0.043	-0.015	0.308
	p	0.804	0.897	0.054	0.517	0.122	0.728	0.007*	.	0.768	0.783	0.060	0.131	0.028*	0.781	0.921	0.040*
Lokal.	kk	-0.107	-0.047	-0.251	-0.199	-0.078	-0.081	0.213	-0.045	1.000	-0.136	-0.183	0.158	-0.168	0.000	0.027	-0.052
	p	0.486	0.758	0.096	0.190	0.611	0.596	0.159	0.768	.	0.374	0.229	0.300	0.269	1.000	0.862	0.735
H. Grad	kk	-0.188	-0.144	0.399	0.391	0.033	-0.248	-0.339	0.042	-0.136	1.000	0.382	0.268	0.337	0.398	0.243	0.307
	p	0.216	0.344	0.007*	0.008*	0.832	0.101	0.023*	0.783	0.374	.	0.010*	0.075	0.024*	0.007*	0.107	0.040*
ILS	kk	-0.476	-0.076	0.556	0.186	0.127	-0.326	-0.612	0.283	-0.183	0.382	1.000	0.509	0.722	0.152	0.419	0.653
	p	0.001*	0.621	0.001*	0.222	0.406	0.029*	0.001*	0.060	0.229	0.010*	.	0.001*	0.001*	0.319	0.004*	0.001*
IKS	kk	-0.236	-0.052	0.288	0.255	0.326	-0.359	-0.461	0.228	0.158	0.268	0.509	1.000	0.401	0.299	0.389	0.353
	p	0.119	0.736	0.055	0.091	0.029*	0.015*	0.001*	0.131	0.300	0.075	0.001*	.	0.006*	0.046*	0.008*	0.017*
MET Lc	kk	-0.239	-0.036	0.756	0.243	0.286	-0.315	-0.612	0.328	-0.168	0.337	0.722	0.401	1.000	0.106	0.337	0.849
	p	0.114	0.814	0.001*	0.107	0.057	0.035*	0.001*	0.028*	0.269	0.024*	0.001*	0.006*	.	0.488	0.023*	0.001*
UD.M	kk	-0.161	-0.148	0.273	0.132	0.260	-0.409	-0.144	-0.043	0.000	0.398	0.152	0.299	0.106	1.000	0.575	0.150
	p	0.290	0.333	0.069	0.389	0.084	0.005*	0.344	0.781	1.000	0.007*	0.319	0.046*	0.488	.	0.001*	0.324
pT	kk	-0.288	-0.196	0.503	0.163	0.108	-0.216	-0.237	-0.015	0.027	0.243	0.419	0.389	0.337	0.575	1.000	0.504
	p	0.055	0.198	0.001*	0.285	0.479	0.154	0.117	0.921	0.862	0.107	0.004*	0.008*	0.023*	0.001*	.	0.001*
Stadijum	kk	-0.252	-0.011	0.722	0.189	0.200	-0.301	-0.471	0.308	-0.052	0.307	0.653	0.353	0.849	0.150	0.504	1.000
	p	0.094	0.941	0.001*	0.213	0.187	0.044*	0.001*	0.040*	0.735	0.040*	0.001*	0.017*	0.001*	0.324	0.001	.

kk - коефицијент корелације (Spearman-ов) p – сигнификантност кк (*- p<0.05)

Табела 36. Корелациона матрица – веза клиничко-патолошких варијабли и испитиваних маркера у дифузног карциног желуца

варијабле		pol	starost	Ki67	p53	STM	E-Cadher	Bcl-2	MA tip	Lokal.	H. Grad	ILS	IKS	MET. Lc	UD.M	pT	Stadiju m
Pol	kk	1.000	-0.016	-0.070	0.021	-0.002	-0.052	0.183	-0.065	0.041	-0.065	-0.021	0.091	-0.059	0.174	-0.033	-0.037
	P	.	0.919	0.650	0.889	0.990	0.734	0.230	0.670	0.789	0.671	0.889	0.551	0.701	0.253	0.831	0.811
Starost	kk	-0.016	1.000	0.034	0.230	0.019	-0.199	0.032	0.031	-0.134	-0.016	-0.098	-0.117	-0.045	0.068	-0.007	0.018
	P	0.919	.	0.823	0.129	0.901	0.189	0.836	0.838	0.379	0.919	0.522	0.444	0.768	0.657	0.963	0.906
Ki67	kk	-0.070	0.034	1.000	0.614	0.922	-0.359	-0.693	0.065	-0.029	0.475	0.687	0.436	0.898	0.346	0.598	0.881
	P	0.650	0.823	.	0.001*	0.001*	0.015*	0.001*	0.672	0.852	0.001*	0.001*	0.003*	0.001*	0.020*	0.001*	0.001*
p53	kk	0.021	0.230	0.614	1.000	0.605	-0.309	-0.548	0.106	0.064	0.486	0.556	0.306	0.554	0.280	0.555	0.656
	P	0.889	0.129	0.001*	.	0.001*	0.039*	0.001*	0.486	0.677	0.001*	0.001*	0.041*	0.001*	0.062	0.001*	0.001*
STM	kk	-0.002	0.019	0.922	0.605	1.000	-0.445	-0.684	0.103	0.012	0.654	0.689	0.451	0.879	0.344	0.647	0.890
	P	0.990	0.901	0.001*	0.001*	.	0.002*	0.001*	0.501	0.940	0.001*	0.001*	0.002*	0.001*	0.021	0.001*	0.001*
E-Cadher	kk	-0.052	-0.199	-0.359	-0.309	-0.445	1.000	0.288	0.073	0.362	-0.544	-0.566	-0.261	-0.371	-0.164	-0.200	-0.346
	P	0.734	0.189	0.015*	0.039*	0.002*	.	0.055	0.634	0.014*	0.001*	0.001*	0.083	0.012*	0.281	0.188	0.020*
Bcl-2	kk	0.183	0.032	-0.693	-0.548	-0.684	0.288	1.000	-0.032	-0.004	-0.441	-0.722	-0.518	-0.722	-0.168	-0.545	-0.690
	P	0.230	0.836	0.001*	0.001*	0.001*	0.055	.	0.836	0.979	0.002*	0.001*	0.001*	0.001*	0.271	0.001*	0.001*
MA tip	kk	-0.065	0.031	0.065	0.106	0.103	0.073	-0.032	1.000	0.104	-0.007	-0.045	0.285	0.104	0.295	0.352	0.205
	P	0.670	0.838	0.672	0.486	0.501	0.634	0.836	.	0.497	0.963	0.770	0.058	0.496	0.049*	0.018*	0.176
Lokal.	kk	0.041	-0.134	-0.029	0.064	0.012	0.362	-0.004	0.104	1.000	-0.003	-0.227	0.075	-0.015	0.130	0.039	0.048
	P	0.789	0.379	0.852	0.677	0.940	0.014*	0.979	0.497	.	0.986	0.134	0.625	0.924	0.396	0.797	0.752
H. Grad	kk	-0.065	-0.016	0.475	0.486	0.654	-0.544	-0.441	-0.007	-0.003	1.000	0.566	0.261	0.520	0.164	0.522	0.578
	P	0.671	0.919	0.001*	0.001*	0.001*	0.001*	0.002*	0.963	0.986	.	0.001*	0.083	0.001*	0.281	0.001*	0.001*
ILS	kk	-0.021	-0.098	0.687	0.556	0.689	-0.566	-0.722	-0.045	-0.227	0.566	1.000	0.549	0.752	0.238	0.584	0.735
	P	0.889	0.522	0.001*	0.001*	0.001*	0.001*	0.001*	0.770	0.134	0.001*	.	0.001*	0.001*	0.116	0.001*	0.001*
IKS	kk	0.091	-0.117	0.436	0.306	0.451	-0.261	-0.518	0.285	0.075	0.261	0.549	1.000	0.498	0.433	0.425	0.542
	P	0.551	0.444	0.003*	0.041*	0.002*	0.083	0.001*	0.058	0.625	0.083	0.001*	.	0.001*	0.003*	0.004*	0.001*
MET Lc	kk	-0.059	-0.045	0.898	0.554	0.879	-0.371	-0.722	0.104	-0.015	0.520	0.752	0.498	1.000	0.333	0.530	0.878
	P	0.701	0.768	0.001*	0.001*	0.001*	0.012*	0.001*	0.496	0.924	0.001*	0.001*	0.001*	.	0.025*	0.001*	0.001*
UD.M	kk	0.174	0.068	0.346	0.280	0.344	-0.164	-0.168	0.295	0.130	0.164	0.238	0.433	0.333	1.000	0.477	0.554
	P	0.253	0.657	0.020*	0.062	0.021*	0.281	0.271	0.049*	0.396	0.281	0.116	0.003*	0.025*	.	0.001*	0.001*
pT	kk	-0.033	-0.007	0.598	0.555	0.647	-0.200	-0.545	0.352	0.039	0.522	0.584	0.425	0.530	0.477	1.000	0.817
	P	0.831	0.963	0.001*	0.001*	0.001*	0.188	0.001*	0.018*	0.797	0.001*	0.001*	0.004*	0.001*	0.001*	.	0.001*
Stadijum	kk	-0.037	0.018	0.881	0.656	0.890	-0.346	-0.690	0.205	0.048	0.578	0.735	0.542	0.878	0.554	0.817	1.000
	P	0.811	0.906	0.001*	0.001*	0.001*	0.020*	0.001*	0.176	0.752	0.001*	0.001*	0.001*	0.001*	0.001*	0.001*	.

kk - коефицијент корелације (Spearman-ов) p – сигнификантност кк (*- p<0.05)

На Табели 37. испитивани маркери (Ki67, p53, Stathmin 1, E-cadherin и Bcl-2) су приказани у корелационој матрици, у својој узајамној повезаности.

Мали је број испитиваних маркера који су у значајној корелацији у интестиналном карциному желуца. Слаб степен међусобне повезаности постоји између Ki67 и Bcl-2, дефинисан негативним коефицијентом од -0.371, који је сигнификантан. Негативан предзнак коефицијента показује да ће Bcl-2 имати ниже експресије при високим вриједностима индекса пролиферације. Сљедећа сигнификантна корелација, код овог типа карцинома, је између E-Cadherin-а и Bcl-2 ($r = -0.316$). И у овом случају је коефицијент корелације у рангу слабе међусобне везе, али позитивног предзнака. То значи да је тенденција експресија оба маркера истог смјера: нижим експресијама E-Cadherin-а одговараће ниже експресије Bcl-2, и обрнуто. Између Stathmina 1 и p53 постоји слаба позитивна корелација (0,295), на граници статистичке значајности у интестиналном карциному.

У дифузном карциному желуца скоро сви биомаркери су у међусобном односу који је сигнификантан, а изузетак су E-Cadherin и Bcl-2, између којих корелација није значајна. Као што је претходно утврђено, ова два маркера су у значајној корелацији у интестиналном карциному.

Изражено висока и сигнификантана међусобна зависност постоји између Ki67 и Stathmina 1 ($r = 0.922$) у дифузном карциному. Индекс пролиферације Ki67 је, у истом типу карцинома, у међусобној умјереној, негативној корелацији и са Bcl-2 ($r = -0.693$) и позитивној са p53 ($r = 0.614$), које су високо сигнификантне. Слаба је и негативна корелација између индекса пролиферације Ki67 и E-Cadherin-а (-0.359). Индекс експресије Stathmina 1, који је у интестиналног карциному у слабој међузависности, у дифузном карциному је умјереним позитивним и високо сигнификантним коефицијентом корелације повезан са експресијом p53. Сљедећа значајна повезаност овог маркера је са Bcl-2, а дефинисана је негативним умјереним коефицијентом корелације -0.684. У овом карциному Stathmin 1 је у међусобној, негативној корелацији и са E-Cadherinom (-0.445),

Сигнификантна је и умјерена веза експресија p53 и Bcl-2 дефинисана негативним коефицијентом корелације (-0.548). Нешто слабија, негативна повезаност експресија постоји између p53 и E-Cadherin (-0.309), у дифузном карциному.

Табела 37. Корелациона матрица – узајамне веза експресија Ki67, p53, Stathmina 1 E-cadherina, Bcl-2 по типу карцинома желуца

варијабла/ параметар		p53	STM	E-Cadher	Bcl-2	карцином желуца
Ki67	kk	0.178	0.079	-0.119	-0.371	интестинални
	p	0.241	0.606	0.436	0.012*	
	kk	0.614	0.922	-0.359	-0.693	дифузни
	p	0.001*	0.001*	0.015*	0.001*	
p53	kk		0.295	-0.036	-0.255	интестинални
	p		0.049*	0.817	0.091	
	kk		0.605	-0.309	-0.548	дифузни
	p		0.001*	0.039*	0.001*	
STM	kk			-0.200	-0.190	интестинални
	p			0.187	0.212	
	kk			-0.445	-0.684	дифузни
	p			0.002	0.001*	
E-Cadher	kk				0.316	интестинални
	p				0.035*	
	kk				0.288	дифузни
	p				0.055	

kk - коефицијент корелације (Spearman-ов) p – сигнификантност кк (*- p<0.05)

Као што је претходна анализа степена међусобних веза параметара клиничко-патолошких варијабли показала, посредством матрице корелација, доминација јачих веза очигледно је преовладала у дифузном карциному желуца. Од значаја за истраживање било је да се утврди степен међусобних веза упоређиваних експресија маркера и параметара клиничко-патолошких варијабли оба карцинома.

Са Табела 35. и 36. се може уочити да су све анализирани експресије у многобројнијим, значајнијим и јачим везама са свим параметрима у дифузном карциному желуца, у односу на интестинални.

Детаљна анализа показује да је индекс експресије Ki67 највишим коефицијентима корелације повезан са метастазама у лимфним чворовима и стадијумом туморске болести у интестиналном карциному (0.722, 0.756). Исти је случај у дифузном карциному али је веза Ki67 и ова два параметра још јача, дефинисана високим коефицијентима корелације 0.881 и 0.898. По величини коефицијента корелације који дефинишу везу Ki67 са осталим варијаблама слиједе: инвазија крвних судова, патолошки стадијум и хистолошки градус тумора у интестиналном карциному (кк=0.556-0.399). Исти редослијед, по степену позитивне корелативне везе, постоји између Ki67 и осталих варијабли у дифузном карциному, али је степен корелације (везе) већи (кк=0.687-0.475). Такође, у овом карциному, значајне су још двије слабије корелације које нису идентификоване у интестиналном: инвазија крвних судова (0.436) и удаљене метастазе (0.346).

Само је једна значајна веза p53 и осталих варијабли у интестиналном карциному желуца - према хистолошком градусу, а дефинисана је позитивним и слабијим коефицијентом 0.391. У дифузном карциному експресија индекса p53 у значајним је

позитивним и умјереним корелацијама са већином хистопатолошких варијабли. Прије свега, најзначајнија је веза са стадијумом туморске болести (0.656), слиједе инвазија лимфних судова, патолошки градус тумора, метастазе у лимфним чворовима (који су у рангу умјерене корелације (око 0.555), а затим хистолошки градус (0.486) и инвазија крвних судова (0.306).

Слично претходном индексу, само је једна значајна веза Stathmina 1 и осталих варијабли у интестиналном карциному желуца. У овом случају веза Stathmina 1 и инвазије крвних судова дефинисана је позитивним и слабијим коефицијентом (0.326).

Индекс експресије Stathmina 1 је повезан са већином хистопатолошких варијабли, високим и значајним, позитивним коефицијентима корелације, у дифузном карциному желуца. Првенствено, то је међусобна зависност овог индекса и стадијума туморске болести (0.890), гдје је ова веза дефинисана вишим коефицијентом у односу на све остале маркере, затим повезаност са метастазама у лимфним чворовима ($r=0.879$). Слиједе везе са инвазијом лимфних чворова, патолошким стадијумом и хистолошким градусом тумора, гдје је корелативна веза висока (0.647-0.689). Повезаност са инвазијом крвних судова и удаљеним метастазама, постоји са слабијим позитивним, али и значајним коефицијентима (0.451, 0.344).

Експресије E-cadherina и Vcl-2 су у корелацијама према свим наведеним варијаблама карактеристични по неизраженој “опређености” према одређеном типу карцинома, која је била уочљива код претходно анализираних маркера, првенствено према дифузном. Затим, све везе ових маркера и клиничко-патолошких варијабли су негативног предзнака, што је последица њихове особености.

Експресија E-cadherina је повезана са славим али значајним и негативним коефицијентима корелације према удаљеним метастазама, инвазијама крвних и лимфних судова, метастазама у лимфним чворовима и стадијуму туморске болести ($r=-0.409$ до -0.301), у интестиналном карциному. У дифузном карциному издвајају се везе E-cadherina са хистолошким градусом и инвазијом лимфних судова, јер су дефинисане јачим негативним коефицијентом корелације, а слиједе, као и код претходног типа тумора, метастазе у лимфним чворовима и стадијум туморске болести са којима су везе слабије (-0.371 и -0.346). Једина слаба корелација која је позитивна код овог маркера је према локализацији тумора која говори да су ниже концентрације и одсуство експресија више повезане са горњом половином желуца и обрнуто.

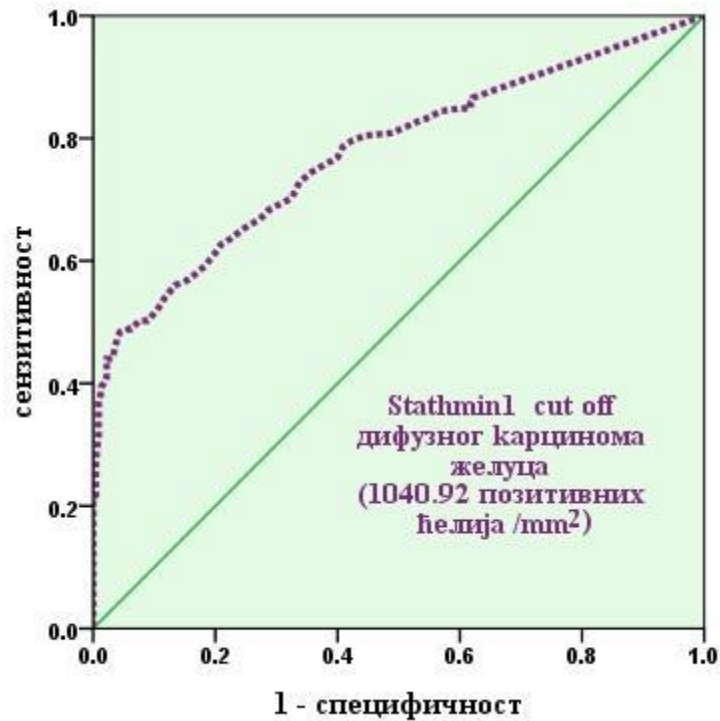
Експресија E-cadherina и Vcl-2 је карактеристична по високо значајним везама које има са инвазијама лимфних и крвних судова, првенствено у дифузном (-0.722), а затим, нешто слабијим, и у интестиналном карциному (-0.612). У дифузном карциному постоји висока међузависност овог маркера са стадијумом туморске болести (-0.690) а затим и патолошким стадијумом (-0.545).

У интестиналном карциному је веза Vcl-2 са стадијумом туморске болести слабија (-0.471), а према патолошком стадијуму тумора није значајна. У овом типу тумора значајна је и слаба веза са макроскопским типом тумора која код дифузног карцинома није значајна.

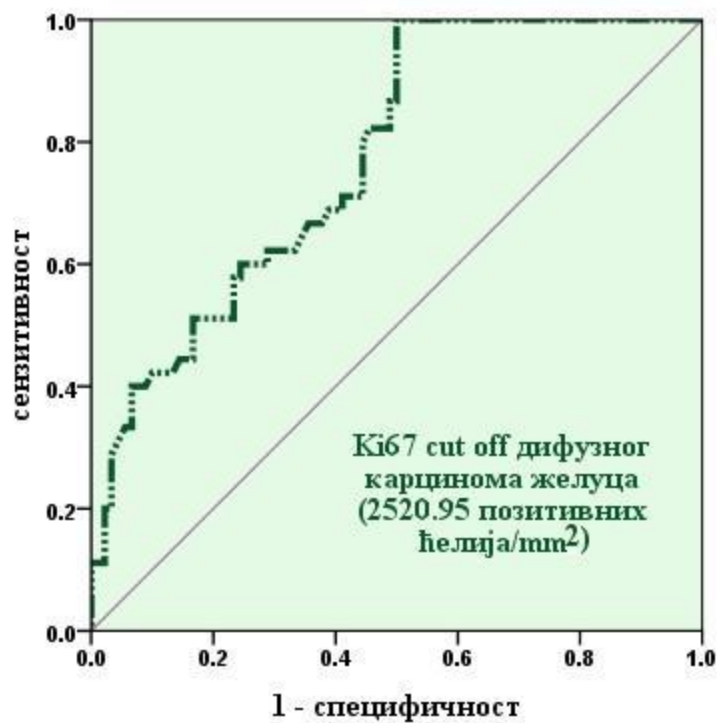
Експресије E-cadherina и Vcl-2 су у слабој, негативној, корелативној зависности и према хистолошком типу оба тумора (-0.339 – интестинални и -0.441 – дифузни.).

5.3.6. Гранична вриједност (cut off) Stathmina 1 и Ki67 у дифузном карциному желуца

Примјеном ROC (receiver operating characteristics) анализе одређене су граничне вриједности Stathmina 1 (Графикон 25.) и контролно - пролиферативног антигена Ki67 (Графикон 26.), изнад којих се са високом поузданошћу може тврдити да је у питању, по свим хистопатолошким параметрима, тежа форма тумора желуца – дифузни карцином.



Графикон 25. ROC крива Stathmina 1 (cut off) у дифузном карциному желуца



Графикон 26. ROC крива Ki67 (cut off) у дифузном карциному желуца

Високо сигнификантна површина испод криве AUC (area under the curve) показује да су добијене „cut off“ вриједности добри дијагностички маркери, уз извјесну предност Stathmin1 у односу на Ki67 у дифузном карциному желуца. (Табела 38).

Табела 38. Упорјеђење Stathmin1 и Ki67 – дијагностичке перформансе

Параметри	AUC	P	CI (95%)	Cut off	Сензитивност	Специфичност
Stathmin1	0.778	<0.001	0.732-0.819	2520.95*	72.9	67.6
Ki67	0.774	<0.001	0.696-0.852	1040.92*	66.7	65.6

*број имунореактивних ћелија у ткиву мм², CI- интервал повјерења

6. ДИСКУСИЈА

6.1. Клиничко-патолошке карактеристике карцинома желуца

Карцином желуца са карциномом колона спада у најчешће малигне неоплазме гастроинтестиналног тракта и чини 7,8% свих карцинома, а четврти је карцином по учесталости иза карцинома дојке, плућа и колоректума (1, 2). Захваљујући адекватним скрининг програмима и сталном усавршавању хируршких техника, инциденца карцинома желуца последњих година показује благи пад на глобалном нивоу, али овај тумор и даље остаје други узрок смрти (иза карцинома плућа) од карцинома (48, 49).

Извјештаји о прогнози карцинома желуца у западним земљама су прилично оскудни, а укупна стопа излјечености ријетко прелази 20%. Прогноза болести и даље остаје лоша у Европи, а прилично повољна у Јапану. Просјечно преживљавање од карцинома желуца у Европи износи 23% док је у Јапану око 66%. Стопа преживљавања карцинома желуца је нижа у земљама у развоју вјероватно због дијагностике тумора у одмаклом стадијуму болести (1, 48). Глобално гледано у земљама са већом инциденцом, стопа преживљавања је већа у односу на земље са мањом инциденцом (340). Сматра се да је смањење инциденце карцинома желуца настало прије свега због смањене учесталости интестиналног типа и то како у нискоризичној, тако и у високоризичној популацији, док је учесталост дифузног типа, прије свега signet ring cell карцинома у сталном порасту, тако да чини 8-30 % свих карцинома желуца. У СЗО (WHO) класификацији из 1990 године signet ring cell карцином је постао специфичан хистолошки ентитет (177), али 2010 године СЗО ообјављује ревидирану хистолошку класификацију у којој је овај тумор сврстан у категорију слабо кохезивних карцинома (2).

У односу на хистогенезу, карциноми желуца су најчешће аденокарциноми који чине око 95% малигнух тумора желуца. Рјеђи малигни тумори су локализовани лимфом желуца, гастроинтестинални стромални тумори (GIST) и MALT лимфоми (2,3).

Према макроскопском изгледу аденокарциноми желуца се класификују по Borrmann-овој класификацији на: полипоидни (тип I), циркумскриптно-улцерозни (тип II), улцерозно-инфилтративни (тип III) и дифузно-инфилтративни (тип IV). У литератури влада мишљење да вегетантни тумори имају бољу прогнозу због тога што раније изазивају појаву симптома (177, 181, 182).

Сложена хистолошка грађа и непредвидљиво биолошко понашање карцинома желуца су индуковали бројне класификације овог тумора (2, 4, 177, 184 - 190), али се традиционално најчешће користи класификација Рекка Laurena из давне 1965. године, по којој се карциноми желуца дијеле на интестинални (добро диферентован) тип, који се јавља у око 50% случајева и дифузни (недиферентован) тип који се јавља у око 33% случајева, при чему је Lauren-ов дифузни тип тумора сачињен из слабо кохезивних ћелија са мало или нимало жлезданих формација. По Lauren-у постоји и мјешовити или неклассификован тип који чини око 17% случајева карцинома желуца (2, 183).

Етиолошки фактори одговорни за настанак карцинома желуца се дијеле у три групе: фактори везани за обољелог, фактори околине и насљедни фактори. Фактори везани за обољелог најчешће обухватају навике у исхрани (исхрана богата нитритима и нитратима и

др.), претјерану конзумацију алкохолних пића, пушење цигарета, гојазност и др. (76-79, 83, 84). Значај фактора околине се може сагледати кроз извјештаје о већој инциденци карцинома желуца у градским насељима, него у људи који живе у сеоским срединама (62, 65), као и кроз чињеницу да је инциденца карцинома желуца у обрнутој корелацији са социо-економским статусом (64, 66). У око 8-10% случајева карцином желуца има наследну компоненту (94, 95).

У литератури доминира став да је најзначајнији чинилац у етиопатогенези карцинома желуца његова повезаност са *Helicobacter pylori* инфекцијом (114 - 116). Осим директним утицајем на промјену нормалне флоре у желуцу и продукцију карциногена, *Helicobacter pylori* посједује и бројне друге факторе вируленције, попут групе гена који су дио хромозомалне DNA (*Cag*-патогено острвце), који су повезани са тешким гастритисом, атрофијом мукозе и пептичким улкусом тако да значајно повећавају ризик за настанак карцинома желуца (120 - 122).

Наведени фактори покрећу карциногене механизме и доводе до карцинома желуца преко хроничног гастритиса, атрофије мукозе, интестиналне метаплазије, дисплазије и интраепителне неоплазије (5, 123). Они, у суштини, представљају факторе ризика за интестинални карцином желуца, будући да дифузни тип желудачног карцинома још увијек нема дефинисану преканцерозну лезију, иако је за њега доказана повезаност са фовеоларном дисплазијом и са гастричним типом полипа (2, 7). Постоје мишљења да су сви стадијуми који предходе развоју „high grade“ дисплазије потенцијално реверзибилни (130, 131).

Захваљујући бројним цитогенетским и молекуларним истраживањима имамо сазнања да су генетска нестабилност, активност теломераза и мутације p53 гена рани догађаји у карциногенези желуца (148, 149).

Највећи број карцинома желуца се дијагностикује у узнатредовалом стадијуму болести, јер је симптоматологија овог тумора у почетном стадијуму веома оскудна и неспецифична, а неријетко почетни стадијуми болести протичу и без симптома (24). Око 25% болесника има тегобе сличне тегобама које имају болесници са улкусном болешћу, што значајно отежава дијагнозу. Уколико се јави дисфагија, може указати на тумор у кардији који се шири према гастроэзофагеалном споју (199). У одмаклој фази болести се јавља бол у горњем дијелу трбуха, губитак тјелесне тежине, мука и повраћање (уколико се тумор налази у антруму). Хематемеза се јавља у око 10-15% случајева, а окултна крварења која трају могу да укажу на малигну природу болести. Неријетко код многих болесника дијагноза се поставља тек након појаве асцита, жутице или палпабилног инфилтрата који указује на одмаклу болест (2, 3, 24).

С обзиром да је због неспецифичне симптоматологије у почетним фази болести веома тешко селектовати болеснике за гастроскопију, Национални институт за здравље и извршност (National Institute for Health and Care Excellence - NICE) је урадио смјернице на основу којих се селектују болесници за гастроскопију. Према тим смјерницама је неопходно да се сваки болесник старији од 55 година, који има анемију у крвној слици, отеклину у епигастријуму, диспепсију, бол и рефлукс киселине хитно (у току 14 дана), упути на гастроскопију (341).

Једини начин лијечења карцинома желуца, који омогућава излечење је оперативна терапија са проширеном ресекцијом и лимфаденектомијом, око које се воде бројне дебате међу хирурзима. Циљ радикалног хируршког лијечења је уклањање тумора са сигурним микроскопским границама и уклањање потенцијално захваћених лимфних чворова (342).

За карциноме који су локализовани у доњој трећини желуца се препоручује или субтотална ресекција желуца или гастректомија. Карциноми средње трећине желуца готово

увијек захтијевају гастректомију, а за карциноме локализоване у проксималном дијелу желуца се, поред гастректомије, препоручује и дистална езофагектомија (343).

Прогноза канцерске болести желуца је још увијек незадовољавајућа и на њу имају утицај бројни фактори: старосно доба, пол, стадијум тумора, локализација тумора у желуцу, хистолошки тип и градус тумора, перинеурална инвазија, захваћеност лимфних чворова, дубина инвазије зида желуца, индекс ћелијске пролиферације, тип операције и др (3, 6, 157, 247, 249, 254, 255, 257). Последњих деценија се запажа видљив напредак у превенцији и раном откривању карцинома желуца, а хируршка доктрина је усавршила извођење тоталне гастректомије са ниским постоперативним морбидитетом и морталитетом.

6.2. Повезаност експресије испитиваних маркера са клиничко-патолошким параметрима карцинома желуца

6.2.1. Експресија *Stathmina 1*, *Ki67*, *E-cadherina*, *p53* и *Bcl-2* у испитиваним групама

О експресији *Stathmina 1* (*STMN1*) у карциному желуца постоје само спорадични извјештаји у литератури. *Stathmin 1* је микротубуларни онкопротеин који игра важну улогу у процесу диобе ћелија тако што регулише динамику микротубула стимулацијом њихове деполимеризације и спречавањем полимеризације тубулских хетеродимера. Запажено је да инхибицијом експресије *Stathmin 1* долази до акумулације ћелија у G2/M фази ћелијског циклуса, што је повезано са алтерацијама диобног вретена и поремећајем ћелијског циклуса на крају M фазе (271, 272, 344).

У овој студији су, испитивањем експресије наведених биомаркера добијене апсолутне величине распрострањености *Stathmin 1* имунопозитивних ћелија у мм² ткива интестиналног и дифузног карцинома желуца, и сусједног нетуморског ткива. Статистичком анализом се запажа да је медијана апсолутног броја *Stathmin 1* имунопозитивних ћелија у мм² ткива сигнификантно већа у дифузном карциному и то како у односу на контролну групу - нетуморско ткиво, тако и у односу на ткиво интестиналног карцинома желуца. Висок ниво експресије *STMN1* је присутан у обје врсте карцинома у око 49% случајева. Статистички сигнификантна разлика у експресији *STMN1* потиче од веће учесталости случајева (37.8%) са нижом експресијом *STMN1* у дифузном карциному у односу на интестинални (13.3% случајева). Истовремено је код интестиналног типа карцинома, одсуство експресије *STMN1* нађено у 37.8% случајева, док је код дифузног типа изостанак експресије овог маркера нађен у свега 13.3% случајева. Ови наши резултати су у корелацији са извештајем Jeon и сар. који су први запазили да је ниво експресије *STMN1* значајно већи у групи пацијената са дифузним карциномом желуца (274).

Запажено је да функционална инхибиција *STMN1* смањује пролиферацију ћелија и инвазивни фенотип, што указује на протуморску улогу *STMN1* код карцинома желуца. Нешто касније је потврђена онкогена улога *STMN1* у карциному желуца и сугерисан је његов прогностички значај. Исти аутори су истакли да *STMN1* представља потенцијалну терапијску мету за карцином желуца (344).

Нуклеарни антиген пролиферишућих ћелија Ki67 је широко коришћен маркер за испитивање пролиферативне активности тумора, с обзиром да се његова експресија може детектовати у свим фазама ћелијског циклуса осим у G₀ фази циклуса (286). Од стране бројних аутора је истакнуто да је експресија Ki67 одличан прогностички параметар (286, 293 - 295).

Испитивањем индекса пролиферације/експресије Ki67 запазили смо да је пролиферативна активност код оба типа карцинома слична, односно између интестиналног и дифузног карцинома желуца није нађена статистички значајна разлика у експресији пролиферативног антигена Ki67 (у оба карцинома је верификовано приближно око 3000 позитивних ћелија у мм² ткива), а ниски и високи индекси пролиферације Ki67 заступљени су у равноправном односу од око 50% код оба типа карцинома.

У односу на контролну групу оба типа карцинома показују значајно више вриједности експресије Ki67, односно значајно више индексе пролиферације, што је у складу са бројним извештајима у литератури (295, 345, 346). Наши резултати потврђују да одређивање експресије Ki67 може пружити корисну прогностичку информацију у пацијената са карциномом желуца.

E-cadherin или увомодулин је најбоље проучен адхезиони молекул, који је лоциран у зонули адхеренс епителних ћелија, гдје повезује актинске филаменте сусједних ћелија (301). Екстрацелуларни домен E-cadherina је од суштинског значаја за међућелијске везе, као и за правилно савијање и хомо/хетеродимеризацију протеина. Цитоплазматски домен E-cadherina је у интеракцији са cateninima (α -, β -, γ - и p120 catenin) везаним за актински цитоскелет, па се успоставља cadherin-catenin комплекс. Експресија E-cadherina на мембранама епителних ћелија поспјешује ћелијске везе и супримира ћелијску инвазију (347).

Редукована експресија или одсуство експресије E-cadherina је запажено у многим малигним туморима (304-310). У овој студији је запажена статистички значајна разлика у експресији E-cadherina у интестиналном карциному и у сусједном нетуморском ткиву. Ова разлика између група се уочава када се упореде случајеви одсуства експресије у интестиналном карциному (око 29%) према сусједном нетуморском ткиву (око 4 % случајева). Поред тога постоји сигнификантно већа заступљеност изражене експресије E-cadherina у сусједном нетуморском ткиву у односу на ткиво интестиналног карцинома (33% према 2% случајева).

Статистички значајна разлика у експресији E-cadherina је запажена и између дифузног карцинома желуца и сусједног нетуморског ткива. Ова разлика је последица значајне заступљености одсуства (82.2%) експресије E-cadherina у дифузном карциному. Поред тога у овом типу тумора је веома ријетко присутна (17.8%) и умјерена експресија E-cadherina, а насупрот овоме умјерена експресија је у значајно високом броју случајева присутна у нетуморском ткиву. Сигнификантно висока учесталост случајева умјереног нивоа експресије E-cadherin-a (68.9%) у интестиналном карциному, у односу на сигнификантан број случајева одсуства експресије E-cadherin-a (82.2%) у дифузном карциному, чине ову разлику значајном. Наши резултати су у корелацији са извештајима других аутора који су испитивали експресију овог маркера у карциному желуца и сугерисали да је редукована експресија E-cadherin-a повезана са лошом прогнозом карцинома желуца (309, 348, 349). Наши резултати такође потврђују запажање да промјене у међућелијским везама и везама ћелија са матриксом доводе до туморске прогресије. E-cadherin је због тога кључан у одржавању епителне архитектуре и поларитета ћелије, док дисрегулација E-cadherina

доприноси инвазији и прогресији тумора, углавном дифузног карцинома желуца (13, 106, 347).

Поред улоге у међућелијским везама, E-cadherin и cadherin-catenin комплекс могу модулирати различите сигналне путеве у епителним ћелијама, укључујући Wnt сигнализацију, Rho GTP-азе и NF- κ B сигналног пута. Губитак E-cadherina стимулише активне сигнале који иницирају епително-мезенхималну транзицију. Сматра се да бројни сигнални путеви, укључујући Wnt сигнализацију, Rho GTP-азу, EGFR, имају активну улогу у процесу епително-мезенхимне транзиције. Дисрегулација E-cadherina, због тога, промовише дисфункције ових сигналних путева и утиче на поларитет, преживљавање, инвазију и миграцију ћелија у карциногенези желуца (106, 347, 348).

Протеин p53 је мултифункционални тумор-супресорни протеин, који регулише транскрипцију гена укључених у репликацију DNA и пролиферацију ћелија, а познат је још и као „чувар генома“, будући да у случају оштећења DNA зауставља њену репликацију (321). Истакнуто је да су мутације TP53 гена најчесталије мутације у хуманој онкологији. Мутирани TP53 ген мијења структуру и функцију протеина p53 и покреће процес онкогенезе (325, 326). Експресија p53 је описана у многим малигним туморима, укључујући и карцином желуца (319, 327, 328).

У нашој студији је експресија p53, изражена бројем имунореактивних ћелија у мм², у интестиналном карциному желуца сигнификантно већа у односу на дифузни карцином и контролну групу – нетуморско ткиво. Висок индекс експресије p53 је присутан у 51.1% интестиналних карцинома и у 48.9% дифузних карцинома желуца. Док су ниски нивои експресије овог маркера нађени у 17.8% интестиналних и у 4.4 % дифузних карцинома. Наши резултати се унеколико разликују од резултата Wei и сар. 2014. који су показали да су високи нивои експресије p53 значајно повезани са Lauren-овом класификацијом карцинома желуца (328). У нашој студији се сигнификантна повезаност овог онкопротеина са класификацијом по Lauren-у запажа само уколико се упореде медијане укупног броја p53 имунореактивних ћелија у интестиналном и дифузном карциному, независно од нивоа експресије.

У бројним извештајима је истакнута веза између експресије p53 са резистенцијом на хемо- и радиотерапију, са неповољним клиничким исходом и слабијим преживљавањем пацијената (149, 327, 328).

Bcl-2 онкопротеин је анти-апоптотички протеин, локализован у интраћелијским мембранама, углавном у спољашњој митохондријалној мембрани, мембрани једра и ендоплазматског ретикулума (350). Експресија овог протеина је присутна у око 70% карцинома, укључујући и карцином желуца, али су подаци о експресији овог онкопротеина у литератури сасвим неусаглашени (8, 9, 332).

У нашој студији, у највећем броју случајева, није идентификована експресија Bcl-2 и то како у интестиналном (44.4% случајева), тако и у дифузном карциному желуца (57.8% случајева). У око 1/3 испитаника у интестиналном и исто толико у дифузном карциному желуца запажена је умјерена експресија Bcl-2. Изражена експресија Bcl-2 је најређе заступљена категорија у карциному желуца (20 % случајева у интестиналном и 8.9% у дифузном карциному). Такође смо запазили да између интестиналног карцинома желуца и контролне групе не постоји значајна разлика у експресији Bcl-2 имунопозитивних ћелија у мм² ткива. За разлику од интестиналног, експресија Bcl-2 имунопозитивних ћелија у ткиву дифузног карцинома значајно је различита у односу на контролну групу - нетуморско ткиво желуца. Наши резултати који се односе на експресију Bcl-2 у интестиналном карциному су најближи резултатима иранских аутора који су PCR анализом показали значајно већу

експресију Vcl-2 гена у здравом ткиву желуца у поређењу са канцерским ткивом и ткивом са маргина карцинома желуца (351).

Аберантна експресија Vcl-2 је нађена у гастричној интестиналној метаплазији, па се сматра да прекомјерна експресија овог онкопротеина, прије појаве дисплазије, представља рани догађај у карциногенези желуца (352). Од стране других аутора је истакнуто да је експресија Vcl-2 независан прогностички фактор у пацијената са карциномом желуца (352).

Такође је показано да експресија Vcl-2 има значајну улогу у предвиђању одговора на хемотерапију у пацијената са карциномом желуца (353), а Martin-Arruti и сар 2012. пријавили да експресија Vcl-2 корелира са лошијом прогнозом болести (354).

6.2.2. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 и демографске карактеристике испитаника

Карцином желуца се ријетко јавља код особа малађих од 30 година, а његова инциденца код старијих добних група упадљиво расте и дуплира се са сваком деценијом живота почевши од 55-65 године, па достже највишу стопу око 75-85 године. При томе је запажено да је карцином желуца два и више пута чешћи у мушкараца у односу женску популацију (130, 355).

У нашој студијској групи је било 58.9% мушкараца и 41.1% жена обољелих од карцинома желуца, при чему нема статистички значајне разлике у заступљености испитаника према полу. Међутим, запажено је да у обољелих са интестиналним карциномом желуца у сигнификантном броју случајева преовлађује мушки пол (73.3% према 26.7%), односно интестинални тип карцинома је чак око 2.7 пута чешћи у мушкој популацији у нашем испитиваном узорку. У дифузном карциному желуца нисмо нашли статистички значајну разлику у расподели пацијената према полу (44% мушкараца према 55.6% жена). Оваква дистрибуција тумора показује да се интестинални и дифузни карцином желуца значајно разликују у односу на пол испитаника, што је у сагласности са познатим подацима из литературе (2, 130, 355 - 357).

Ми смо у интестиналном типу карцинома висок индекс експресије Stathmina 1 (STMN1) верификовали у 54.5% мушкараца и у 33.3% жена, при чему ова разлика није значајна. У дифузном карциному је, такође без значајне разлике у односу на пол, висок индекс експресије STMN1 нађен у 55% мушкараца и 48% жена. Значајна повезаност STMN1 са полом испитаника није запажена ни од стране других аутора (274, 344).

Високи и ниски индекси пролиферације/експресије Ki67 у нашој студији су заступљени у равноправном односу код оба типа карцинома у односу на пол испитаника, што је у сагласности са већином извјештаја из литературе (345, 346). Међутим, румунски аутори су пријавили значајно већу инциденцу карцинома желуца са високим пролиферативним индексом/експресијом Ki67 у пацијената мушког пола, док су у испитаница женског пола у највећем броју случајева евидентирани тумори са ниским индексом пролиферације. Аутори сугеришу да би одређивање индекса пролиферације/експресије Ki67 могло бити корисно у преоперативном стадирању тумора, како би се издвојили пацијенти са неповољном клиничком еволуцијом, рецидивима и раним морталитетом (358).

У нашем истраживању није запажена значајна разлика у дистрибуцији E-cadherina у односу на пол испитаника ни у интестиналном, ни у дифузном карциному желуца, што је у сагласности са резултатима других аутора (309, 311, 312, 313, 360).

Ми смо у, нашој студији, у интестиналном карциному висок ниво експресије p53 евидентирали у 54.5% испитаника мушког пола и у 41.7 испитаница, али ова разлика у експресији p53 у односу на пол није значајна. Potesã и сар. 2014. су нашли сигнификантну повезаност експресије p53 са одмаклим годинама, са мушким полом и са интестиналним типом карцинома желуца (210). У опсежној мета анализи која је обухватила око 6600 испитаника је запажено да су високи нивои експресије p53 сигнификантно повезани са полом испитаника (328).

У нашој студији није нађена значајна разлика у дистрибуцији Vcl -2 у односу на пол испитаника, што је у складу са подацима у литератури (9, 332).

Посматрајући старост наших испитаника уочили смо да не постоји значајна разлика између просјечне старости мушкараца са интестиналним и просјечне старости испитаника мушког пола са дифузним карциномом желуца. Међутим, поређењем просјечне старости испитаника женског пола, уочавамо да су жене са интестиналним карциномом сигнификантно старије (70.9 ± 6.78) од жена са дифузним карциномом желуца (60.8 ± 11.9). Такође је запажено да је просечна старост мушкараца са интестиналним карциномом значајно мања у односу на просечну старост жена са истим типом тумора, али није нађена статистичка разлика у просечној старости између мушкараца и жена код испитаника са дифузним карциномом. Демографски подаци у нашим испитиваним групама се унеколико разликују од извјештаја у литератури. Прије свега, најмлађи пацијент у нашој студији је у вријеме дијагнозе имао 50 год, а Qiu и сар. су 2013. год. извјестили о чак 7.5% испитаника са карциномом желуца који су били млађи од 18 година (359). Просјечна старост наших пацијената са дифузним типом карцинома је била око 60 година, док је у другим, бројним студијама показано да се дифузни карцином желуца чешће јавља код млађих особа (2, 6, 357, 359), а спорадично је запажено да постоји сигнификантна повезаност дифузног карцинома желуца са женским полом (359).

Испитивањем експресија Stathmin 1 у односу на старосну доб наших пацијената нисмо запазили значајну повезаност овог маркера са старосном доби испитаника и то како са интестиналним тако и са дифузним типом карцинома желуца. Од стране других аутора је саопштена сигнификантна повезаност експресије Stathmin 1 са старијим животним добом у дифузном карциному желуца (344).

Испитивањем пролиферативног индекса у односу на старосну доб наших пацијената није нађена значајна разлика што је у складу са студијом Abdel-Aziz и сар. 2017. и Min и сар. 2017. (345, 346).

Како у нашој студији, тако ни у референтној литератури није запажена значајна разлика у дистрибуцији експресије E-cadherina у односу на старосно доба пацијента (309, 311, 312, 313).

Ми смо висок индекс експресије p53, али без статистичке значајности нашли у 55.3% испитаника старих преко 60 година. У дифузном карциному је, такође без статистичке значајности, висок индекс експресије p53 нађен у 59.1% испитаника старијих од 60 година. Potesã и сар. 2014. су запазили сигнификантну повезаност експресије p53 са одмаклим годинама испитаника (210).

Попут других маркера и дистрибуција експресије Vcl-2 не зависи од старости пацијента, што је потврђено и од стране других истраживача (9, 332).

Прогностички значај пола пацијента за карцином желуца још увек није сасвим разјашњен. Код дифузног типа карцинома мушкарци обично имају лошију прогнозу у односу на жене, али то може бити повезано и са већом учесталосту проксималне локализације тумора код мушкараца. У већини студија пол не показује независну прогностичку вредност за преживљавање пацијената са карциномом желуца, међутим у недавном извештају кинеских аутора је истакнуто да учесталост и морталитет од карцинома желуца показује значајне полне и регионалне разлике (356).

6.2.3. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 у односу на pT стадијум тумора

Одређивање стадијума тумора обухвата клинички степен туморског раста и степен његовог ширења. У литератури се сматра да је стадијум тумора један од најважнијих независних прогностичких фактора. Прецизно одређивање стадијума болести је важно за разумевање биолошког понашања тумора, за планирање терапијског третмана, сагледавање резултата лијечења и за прогнозу болести (157, 177).

Патолошки стадијум карцинома желуца се одређује по TNM класификационом систему, гдје Т указује на проширеност болести, односно дубину инфилтрације кроз зид желуца. У TNM класификацију тумора желуца нису укључени лимфоми, саркоми, и неуроендокрини тумори. Овај систем стадирања укључује преоперативне податке, интраоперативну процјену хирурга и детаљну хистопатолошку анализу (2). Преоперативни „staging“ обухвата прецизно физичко испитивање, пажљиву историју болести и основне прегледе (ендоскопија, биопсија и ултрасонографија). У зависности од могућности „staging“ укључује и комјутеризовану томографију, магнетну резонанцу и хируршку централну лапароскопску експлорацију абдоминалне дупље и узорковање абдоминалног лавата (76, 201, 240). Напредак у молекуларној биологији је обезбиједио могућност одређивања различитих молекуларних маркера који корелирају са клиничким исходом туморске болести, што знатно унапређује преоперативни „staging“ карцинома желуца (267 - 269).

У нашој студији је највише испитаника како са интестиналним (75.6%) тако и са дифузним карциномом желуца (57.8% случајева) било са T₃ патолошким стадијумом тумора. Није нађена сигнификантна разлика у дистрибуцији патолошког стадијума тумора између интестиналног и дифузног карцинома желуца, али у сигнификантном броју случајева преовлађују виши патолошки стадијуми (T₃ и T₄), без разлике између интестиналног и дифузног карцинома, што је у сагласности са референтним подацима у литератури (210, 358, 359). Спорадично је саопштено да постоји сигнификантна повезаност између дифузног карцинома желуца и одмаклог TNM стадијума тумора (359).

Већина испитиваних маркера у нашој студији, не показује значајну разлику према патолошком стадијуму тумора у интестиналном карциному, док већина испитиваних маркера, сем E-cadherina показује значајну разлику у експресији према патолошком стадијуму болести у дифузном карциному.

Индекс експресије Stathmina 1 је у T₁-T₂ дифузним карциномима у већини случајева низак, али у T₃-T₄ постоји значајна заступљеност ниских индекса експресије STHM1. И други аутори су нашли сигнификантну повезаност експресије STHM1 са патолошким стадијумом тумора у дифузном карциному желуца (274, 344).

Дистрибуција индекса пролиферације у односу на патолошки стадијум тумора је слична у оба типа карцинома., али смо запазили да је статистичка значајност разлика између упоређиваних високих и ниских индекса пролиферације у дифузном карциному већа, односно у дифузном карциному постоји значајно више случајева са високим пролиферативним индексом. Слична запажања су истакнута и у другим студијама (345, 346, 360).

Ми нисмо нашли значајну разлику у експресији E-cadherina у односу на патолошки стадијум тумора у испитиваним групама, али је у мета-анализи, која је обухватила 26 студија и 2783 пацијента, спроведеној од стране кинеских аутора, у 13 студија са 1630 испитаника запажена сигнификантна повезаност редуковане експресија E-cadherina са T₃ и T₄ патолошким стадијумом тумора (361) .

У интестиналном карциному нисмо нашли статистичку значајност ни у експресији p53 у односу на патолошки стадијум тумора. У дифузном карциному у T₁ -T₂ није нађена експресија p53 у значајно великом броју случајева (91.7%), а у патолошком T₃-T₄ постоји значајна разлика у учесталости високог индекса експресије p53 у односу на одсуство експресије, што је у сагласности са запажањима Wei и сар. 2015., који су у спроведеној мета-анализи нашли значајну везу између експресије p53 и TNM стадијума тумора (328).

Извјештаји о експресији анти-апоптотичног протеина Bcl-2 у односу на патолошку класификацију карцинома желуца су сасвим неусаглашени. Ми нисмо нашли значајне разлике у експресији Bcl-2 у односу на патолошки стадијум тумора, што је сагласно са резултатима Yawata и сар. и Akhtar и сар. 2013 (9, 332), а разликује се од извјештаја кинеских аутора (362).

У односу на стадијум туморске болести, највише испитаника са интестиналним карциномом је било у II B стадијуму (24.4%), док је највише испитаника са дифузним карциномом (26.7%) је било у III B стадијуму туморске болести. Између интестиналног и дифузног карцинома желуца не постоји значајна разлика у односу на стадијум туморске болести.

Већина испитиваних маркера, осим пролиферативног антигена Ki67 не показује значајну разлику у експресији у односу на стадијум туморске болести, у интестиналном карциному желуца. Насупрот овоме, дистрибуција експресије свих испитиваних маркера показује значајну разлику у односу на стадијум туморске болести у дифузном карциному.

У дифузном карциному желуца већ у II стадијуму туморске болести код наших испитаника постоји значајна учесталост ниског индекса експресије STMN1, док смо у III и IV стадијуму нашли сигнификантно високе индексе експресије STMN1 у 95.7% случајева. Ови наши резултати су у потпуној корелацији са извјештајима у литератури (274, 344).

Пролиферативни индекс је једини маркер у овој студији који је у сигнификантном броју случајева био висок у узрапредовалом стадијуму болести (III и IV стадијум), како у интестиналном (95% случајева), тако и у дифузном карциному (100% случајева), што корелира са резултатима у другим студијама (345, 346).

Сигнификантан недостатак експресије E-cadherina смо запазили у IV стадијуму туморске болести, у дифузном карциому желуца. Кинески аутори су такође у својој мета-анализи, у 9 од 26 студија, на узорку од 923 пацијента нашли сигнификантну повезаност редуковане експресије E-cadherina са одмаклим (III и IV) стадијумима туморске болести (361). Постоје многобројна запажања да је редукована експресија овог протеина у корелацији са лошом прогнозом туморске болести (309, 311 - 313).

Високи индекси експресије p53 које смо нашли у 78.3% наших испитаника са дифузним карциномом у IV стадијуму туморске болести су сигнификантни и у складу са налазима других аутора (328, 345).

У нашој студији дистрибуција експресија Bcl-2 у односу на стадијум туморске болести показује значајност једино у дифузном карциному и то у IV стадијуму, када је експресија овог маркера сигнификантно одсутна у 91.3% случајева. Ови наши налази се знатно разликују од резултата Min. и сар. 2017 који су нашли сигнификантну повезаност експресије Bcl-2 са узрапредовалим интестиналним карциномом желуца (346).

Bcl-2 фамилија онкопротеина своје анти-апоптотичке ефекте остварује мијењајући пропустљивост мембране митохондрија, па тако индиректно регулишу процесе апоптозе преко ослобађања *cytochrome C* и активности каспаза. Синтеза Bcl-2 је кодирана од стране гена који је лоциран на дугом краку 18. хромозома, на локусу q21.31 (352). Постоје експериментални докази да поремећаји апоптозе могу значајно утицати на процесе малигне трансформације (362).

6.2.4. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Bcl-2 и макроскопски тип и локализација тумора у желуцу

Прва макроскопска класификација карцинома желуца, која се још увијек користи потиче још из 1926. године. По овој класификацији се разликују вегетантни (полипоидни), улцерозно-вегетантни, улцерозно-инфилтративни и дифузно инфилтративни макроскопски тип карцинома желуца (211).

Полипоидни и улцерозно-вегетантни макроскопски тип чине око 25 % узрапредовалих карцинома желуца и обично се презентују као трошне масе, са тенденцијом раста у тијело желуца у региону велике кривине, задњег зида или фундуса. У вријеме дијагностике су обично великих димензија (177).

Улцерозно-инфилтративни тумори чине око 36% свих узрапредовалих карцинома желуца. Јављају се најчешће у кардији, антруму или у предјелу мале кривине. Разликују се од бенигног улкуса по томе што имају ирегуларне маргине према осталом ткиву са уздигнутим ивицама. Околно ткиво је трошно, истањено и индурирано а слузокожа око улцерозног кратера је обично задебљала (177).

Дифузно инфилтративни тип се шири суперфицијално у мукози и субмукози тако да формирају лезије сличне плаку са заравњеним пољима. Најчешће инфилтрације обухватају цијелу дебљину желудачног зида, када је зид изразито задебљан и чврсте конзистенције (177).

У нашој студији није запажена значајна разлика у дистрибуцији макроскопског типа тумора у односу на хистолошки тип карцинома желуца. У интестиналном карциному су најчесталији улцерозни и улцерозно-инфилтративни тип (35.6% и 20%), док је улцерозно-вегетантни тип најређе заступљен у овом хистолошком типу. У дифузном карциному желуца су такође најчесталији (у преко 60%) улцерозно-инфилтративни и улцерозни тип. У референтној литератури је саопштено да је улцерозно-инфилтративни тип најчесталија макроскопска варијанта карцинома желуца (182, 240).

У овој студији није запажена значајна разлика у дистрибуцији експресије Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Bcl-2 у односу на макроскопски тип тумора ни у интестиналном ни

у дифузном типу карцинома, што је у складу са релевантним подацима из литературе (210, 274, 328, 344, 345).

Бројне студије су показале да се карциноми желуца осим по полу, старосном добу, географском подручју и хистолошким типовима разликују и по анатомској локализацији у желуцу. Познато је да се инциденца и морталитет карцинома проксималног дијела желуца или кардије и инциденца карцинома дисталног желуца разликују (2, 141).

Посматрајући дистрибуцију карцинома желуца по локализацији у нашим испитиваним групама запазили смо да су тумори у око 62-67% случајева локализовани у доњој половини желуца и то како у интестиналном, тако и у дифузном карциному. Локализација тумора у горњој половини желуца, у више од трећине наших испитаника (око 33-38%), није и статистички значајно мања ни у интестиналном, ни у дифузном карциному. У извјештајима из литературе се запажа да је око 20-60% карцинома локализовано у проксималној половини желуца (248, 249).

У нашој студији, ни у дистрибуцији експресије Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 у односу на локализацију тумора у желуцу није нађена значајна разлика ни у интестиналном ни у дифузном типу карцинома. У односу на локализацију се једино умјерена експресија E-cadherina значајно разликује у дифузном карциному желуца и то на начин да је у око 29% случајева забележена само при локализацији тумора у доњој половини желуца. Запажања се не разликују од других извјештаја у литератури (210, 274, 344, 345).

Иако се укупна инциденца карцинома желуца смањује, учесталост карцинома у проксималном желуцу је у порасту, нарочито у мушкој популацији у западним земљама, док је инциденца карцинома дисталног дијела желуца у паду (248). Проксимални карцином желуца (који има лошију прогнозу) је сличан аденокарциному езофагуса с обзиром на пол, расу и социјални статус, па се сматра да представља различит биолошки ентитет. Карциноми кардије желуца учесталији су 5 пута код мушкараца у односу на жене, а два пута су учесталији код бијелаца. Карцином кардије углавном је дифузног типа док је дистални карцином желуца углавном интестиналног типа. Карциноми кардије имају знатно лошију прогнозу у поређењу са карциномима дисталног дијела желуца, са слабијим петогодишњим преживљавањем и већим оперативним морталитетом (249). Постоје извјештаји у којима је показана сигнификантна повезаност карцинома кардије са старијим животним добом пацијента и инфекцијом *Helicobacter pylori* (240). Даље, локализација тумора одређује ширину ресекције што има утицаја на дренажни лимфни систем (147, 155).

6.2.5. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 и хистолошки градус тумора

Хистолошки градус тумора је важан прогностички фактор и независан од стадијума тумора. Градирање се базира на броју митоза у тумору и на степену сличности туморског ткива са нормалним матичним ткивом из кога тумор потиче (141). Мора се признати да је и поред постојања неколико система градирања, одређивање степена диферентованости у великој мјери субјективна категорија, јер још увијек не постоји опште прихваћен стандард градирања хистолошке диферентованости тумора.

У овој студији постоји значајна разлика у дистрибуцији тумора по хистолошком градусу између интестиналног и дифузног карцинома желуца. Наиме, интестинални карциноми су у највећем броју случајева (68.9%) умјерено диферентовани тумори, док су дифузни у највећем броју случајева (82.2%) слабо диферентовани карциноми.

У интестиналном карциному желуца ми нисмо нашли значајне разлике у дистрибуцији индекса експресије Stathmina 1 у односу на хистолошки градус. У слабо диферентованом дифузном карциному желуца смо запазили да су висок и низак индекс експресије Stathmina 1 уједначено заступљени и без статистички значајне разлике. Међутим, уколико се овај налаз упореди са ниском експресијом и одсуством експресије Stathmina 1 у умјерено диферентованом дифузном карциному, онда сигнификантна разлика у дистрибуцији индекса експресије Stathmina 1 према хистолошком градусу дифузног карцинома постаје евидентна.

У интестиналном карциному је нађена сигнификантна разлика у дистрибуцији индекса пролиферације у односу на хистолошки градус тумора и то тако да је највећи број случајева са ниским индексом пролиферације распоређен у умјерено диферентованом типу, док је значајно већи број случајева са високим индексом пролиферације запажен у слабо диферентованом интестиналном карциному. Оваква расподела индекса пролиферације у односу на хистолошки градус у потпуности корелира са подацима из литературе (345, 346).

Сигнификантна разлика у дистрибуцији E-cadherina у односу на хистолошки градус је нађена и у интестиналном и у дифузном карциному. Значајна разлика у експресији E-cadherina у односу на хистолошки градус тумора, у интестиналном карциному, је последица одсуства експресије E-cadherina у 50% случајева слабо диферентованих карцинома. Разлика у експресији E-cadherina у односу на хистолошки градус у дифузном карциному је последица умјерене експресије која је била присутна у 62.5% случајева у умерено диферентованом и одсуства експресије у значајних 91.9% случајева у слабо диферентованом дифузном карциному. Наши резултати су у сагласности са истраживањима других аутора (309, 311 - 313).

У односу на хистолошки градус, запазили смо да постоји сигнификантна разлика у дистрибуцији индекса експресије p53 у интестиналном и у дифузном карциному желуца. Наиме, у умјерено диферентованом интестиналном карциному је висок индекс експресије p53 нађен у 39% случајева, док је у слабо диферентованом интестиналном карциному висок индекс експресије p53 нађен у сигнификантних 79% случајева. У умјерено диферентованом дифузном карциному желуца у 100% случајева није било експресије p53, док је у слабо диферентованом карциному индекс експресије био сигнификантно висок у око 60% случајева. Повезаност експресије p53 са хистолошким градусом карцинома желуца је саопштена и од стране других аутора (328).

Испитивањем експресије Vcl-2 није нађена сигнификантна разлика дистрибуције овог онкопротеина у односу на хистолошки градус тумора у интестиналном карциному, док је у дифузном карциному запажена значајна разлика која је последица одсуства експресије Vcl-2 у сигнификантних 67.6% случајева у слабо диферентованом дифузном карциному желуца.

6.2.6. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 и инвазија лимфних и крвних судова

Ми смо у највећем броју случајева, како у интестиналном, тако и у дифузном карциному желуца, дијагностиковали туморе са инвазијом лимфних судова, при чему се запажа да између интестиналног и дифузног карцинома нема статистички значајне разлике у дистрибуцији тумора са инвазијом лимфних судова, али је присуство инвазије лимфних судова од 75.6% код интестиналног и 68.9% код дифузног карцинома значајно већа у односу на случајеве без инвазије лимфатика.

За разлику од инвазије лимфних судова, инвазија крвних судова није идентификована у већем броју случајева код оба типа карцинома, при чему се запажа да мања инциденца присуства инвазије крвних судова код интестиналног (44.4%) и дифузног карцинома (40 %) није и статистички значајно мања.

Дистрибуције индекса експресије Stathmina 1 у односу на инвазију лимфних и крвних судова се не разликују значајно у интестиналном карциному желуца.

Расподјела индекса експресије Stathmina 1 у односу на инвазију лимфних судова значајно се разликује само у дифузном карциному желуца. Ова разлика је последица тога што је у 64.3% случајева индекс експресије Stathmina 1 низак и у 35.7% случајева постоји одсуство експресије када у дифузном карциному није идентификована инвазија лимфних судова. Међутим, у дифузном карциному са инвазијом лимфатика висок индекс експресије Stathmina 1 је нађен у сигнификантних 71% случајева.

Дистрибуција индекса експресије Stathmina 1 у односу на инвазију крвних судова се такође разликује само у дифузном карциному и последица је присуства високог индекса експресије Stathmina 1 у сигнификантних 77.8% случајева у дифузном карциному са инвазијом крвних судова. Jeon и сар. 2010. су такође извјестили о значајно повишеној експресији Stathmina 1 у дифузним карциномима са васкуларном инвазијом и истакли да повишени нивои експресије овог протеина стимулише миграцију канцерских ћелија (274).

Дистрибуција индекса експресије пролиферативног антигена Ki67 се, у односу на инвазију лимфних судова, значајно разликује, како у интестиналном тако и у дифузном карциному. У оба типа тумора желуца низак индекс пролиферације је уочен у 100% случајева код којих није идентификована инвазија лимфних судова. Међутим, у случајевима интестиналног карцинома са инвазијом лимфних судова, нисмо регистровали статистички значајну разлику између високог и ниског индекса експресије овог антигена. У дифузном карциному желуца са присутном инвазијом лимфатика индекс експресије пролиферативног антигена је у сигнификантних 74% случајева био висок.

Дистрибуција индекса експресије пролиферативног антигена Ki67 у односу на инвазију крвних судова не показује статистички значајне разлике у интестиналном карциному желуца, али је висок индекс пролиферације присутан у сигнификантних 77.8% случајева у дифузном карциному са инвазијом крвних судова. Хетерогена експресија пролиферативног антигена Ki67 у карциному желуца, са сигнификантним индексом пролиферације у односу на инвазију лимфатика и крвних судова, у дифузном типу карцинома, је саопштена и од стране Min и сар. 2017. (346).

Дистрибуција експресије E-cadherina се значајно разликује у односу на присуство инвазије лимфних судова како у интестиналном тако и у дифузном карциному желуца. Код дифузног карцинома са инвазијом лимфних судова, одсуство експресије E-cadherina је

нађено у сигнификантних 97% случајева. И други аутори су запазили да је експресија E-cadherina у инверзном односу са васкуларном инвазијом и инвазијом лимфатика (309, 311-313).

Расподјела индекса експресије p53 у односу на инвазију лимфних и крвних судова се не разликује значајно у интестиналном карциному. Међутим, индекс експресије овог протеина је висок у значајних 67.7% случајева са дифузним карциномом са инвазијом лимфатика, и такође у значајних 77.8% случајева са дифузним карциномом са инвазијом крвних судова, што је у сагласности са наводима из литературе (328, 346).

Експресија онкопротеина Vcl-2 се сигнификантно разликује у односу на присуство инвазије лимфатика, како код интестиналног тако и код дифузног карцинома. У интестиналном карциному, у случају инвазије лимфних судова изражена експресија Vcl-2 је евидентирана у сигнификантно већем броју случајева (72.7%), док је код дифузног карцинома са присутном инвазијом лимфатика одсуство експресије Vcl-2 регистровано у сигнификантних 80.6% случајева. Експресија Vcl-2 је у односу на инвазију крвних судова сигнификантно различита у интестиналном карциному. Ова различитост је последица значајног одсуства експресије Vcl-2 у 65% случајева када је инвазија крвних судова присутна. У дифузном карциному се такође запажа сигнификантно одсуство експресије Vcl-2 у 88.9% случајева у тумора са инвазијом крвних судова. Извјештаји у литератури који се односе на значај експресије Vcl-2 у карциному желуца су оскудни и контрадикторни, али наши резултати су у корелацији са запажањима Min. и сар. 2017., који су такође регистровали сигнификантну повезаност експресије Vcl-2 са перинеуралном инвазијом и инвазијом лимфатика и крвних судова (346).

6.2.7. Експресија Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl-2 и метастазе у лимфним чворовима и удаљене метастазе

У бројним студијама је истакнута веза између величине тумора и броја лимфних чворова са метастатским депозитом. Запажено је да је дужина преживљавања повезана са бројем захваћених лимфних чворова (2, 255). У сваком хистопатолошком извјештају мора да буде назначен број прегледаних лимфних чворова. Присуство туморских ћелија у лимфном чвору настало лимфогеним путем или директном инвазијом кроз капсулу, сматра се регионалном лимфонодалном метастазом (141).

Испитивањем метастаза у лимфним чворовима у интестиналном и дифузном карциному није нађена значајна разлика поређењем дистрибуције захваћених лимфних чворова, између ова два типа тумора. Одсуство метастаза у лимфним чворовима је веће, али не значајно, у групи испитаника са дифузним карциномом. У групи пацијената са интестиналним карциномом већи је број испитаника са метастазама у 1-6 лимфних чворова (42.2%) него у групи са дифузним карциномом (23.4%). Са друге стране број испитаника са метастазама у више од 7 лимфних чворова је већи, али не и значајно већи у групи пацијената са дифузним карциномом (37.8% према 28.8%).

Испитивањем индекса експресије Stathmina 1 у односу на метастазе у лимфним чворовима, утврђено је да не постоји значајна разлика у његовој експресији према метастазама у лимфним жлездама у интестиналном карциному желуца. Напротив, у

дифузном карциному је висок индекс експресије Stathmina 1 нађен у врло сигнификантних 100% случајева када је метастазама захваћено 7 и више лимфних чворова. Значајну повезаност експресије Stathmina 1 са метастазама у лимфним чворовима у дифузном карциному желуца су у својој студији утврдили и Kang и сар. 2012. (344).

У оба типа карцинома желуца смо евидентирали значајне разлике у експресији пролиферативног Ki67 антигена у односу на метастазе у лимфним жлездама. Висока сигнификантност разлика у експресији овог антигена је последица заступљености ниског индекса пролиферације у 100% случајева тумора без метастаза у лимфним чворовима и високих индекса пролиферације у 92,3-100% случајева код тумора са метастазама у лимфним жлијездама код оба типа карцинома. Наши резултати су у сагласности са другим, бројним извјештајима у литератури (286, 293 - 295, 345, 346).

У нашој студији је у сигнификантно великом броју случајева (94.1-100%) евидентирано одсуство експресије E-cadherina у дифузном карциному желуца, чак и када су присутна метастазе у једном лимфном чвору. У мета-анализи која је обухватила 16 студија и 1801 пацијента је такође запажена сигнификантна веза између редуковане/одсуства експресије E-cadherina и метастаза у лимфним чворовима, у дифузном карциному желуца (361).

Дистрибуција индекса експресије p53 се не разликује значајно у односу на присуство метастаза у лимфним чворовима у интестиналном карциному. Међутим, у дифузном карциному, када постоје метастазе у више од 7 лимфних чворова, висок индекс експресије p53 је нађен у сигнификантних 76.5% случајева.

Експресија Bcl-2 у односу на метастазе у лимфним чворовима је слична у интестиналном и дифузном карциному, односно у обје врсте тумора се у случају метастаза у 7 и више лимфних чворова запажа одсуство експресије Bcl-2 у значајних 76.9-100% случајева.

Под удаљеним метастазама се подразумевају метастазе у било који нерационални лимфни чвор, или било који орган, перитонеална дисеминација до абдоминалних органа и позитиван цитолошки налаз у перитонеалној течности. Овдје треба нагласити да у патолошкој класификацији тумора патолошки M (pM) се заснива искључиво на присуству метастаза у удаљеним органима које су верификоване патохистолошким прегледом.

Присуство удаљених метастаза смо ријетко идентификовали код наших испитаника, без обзира на хистолошки тип. Дистрибуција удаљених метастаза је слична у оба типа карцинома, односно удаљене метастазе нису нађене у 93.% интестиналних и у 88.9% дифузних карцинома.

Већина испитиваних маркера (Stathmina 1, Ki67, p53 и Bcl-2) не показују значајну разлику у дистрибуцији експресије у интестиналном карциному, а изузетак је E-cadherin са одсутном експресијом у значајних 100% случајева са удаљеним метастазама. У дифузном карциному је висок индекс пролиферације запажен у сигнификантних 100% случајева са удаљеним метастазама. У мета-анализи Li и сар. 2014., која је обухватила 8 студија и 951 пацијента је такође утврђена сигнификантна повезаност редуковане и /или одсуства експресије E-cadherina и удаљених метастаза (361). Висок индекс експресије p53 је нађен у значајних 80% случајева дифузног карцинома са удаљеним метастазама

6.3. Узајамни односи испитиваних варијабли

Анализа клиничко-патолошких варијабли, затим и Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53, Vcl-2, у интестиналном и дифузном карциному желуца, показала је да постоје значајне и високо значајне везе у појединим узајамним односима. Праву мјеру њихове повезаности показује корелациона анализа, где је значајност те везе представљена значајношћу коефицијента корелације, а јачина везе његовом величином.

6.3.1. Међусобна повезаност свих клиничко-патолошких варијабли по типу карцинома желуца

У интестиналном карциному је пол испитаника повезан слабим, али значајним коефицијентом корелације ($k_k=0.300$) са старосном доби и нешто јачим, такође значајним, али негативним коефицијентом корелације ($k_k=-0.476$) са инвазијом лимфних судова. У дифузном карциному желуца пол и старост испитаника не показују зависност у односу на остале клиничко-патолошке параметре.

У нашој студији је интестинални карцином 2.7 пута чешћи код мушкараца, са просјечном старосном доби која је значајно мања у односу на просјек старости жена обољелих од овог карцинома. Преко 50% жена са интестиналним карциномом је у старосној доби преко 70 година. Сигнификантну повезаност интестиналног карцинома са полом и старошћу испитаника су у студији спроведеној на узорку од 805 пацијената саопштили Qiu и сар. са Sun Yat-sen Универзитета у Кини (361).

Макроскопски тип тумора показује слабу зависност у односу на све остале клиничко-патолошке варијабле, у оба типа карцинома. Међутим, и слабе, позитивне корелативне зависности, које су статистички значајне на усвојеном нивоу поузданости, разликују се у односу на тип карцинома.

У интестиналном карциному желуца макроскопски тип тумора значајним, позитивним али слабим коефицијентима корелације, повезан је са метастазама у лимфним чворовима и стадијумом туморске болести ($k_k= 0.328$ и 0.308). У дифузном карциному желуца макроскопски тип тумора је значајним, али слабим коефицијентима корелације, повезан са патолошким стадијумом тумора и удаљеним метастазама ($k_k= 0.352$ и 0.295).

Локализација тумора не показује значајну повезаност ни са једним клиничко-патолошким параметром, што се у корелационој анализи показује одсуством значајних коефицијената корелације.

Хистолошки градус је у интестиналном карциному желуца повезан слабим, али сигнификантним, позитивним коефицијентом корелације (од 0.307 до 0.398) са удаљеним метастазама (0.398), са инвазијом лимфних судова (0.382), са метастазама у лимфним чворовима (0.337) и стадијумом туморске болести (0.307). У дифузном карциному све узајамне везе хистолошког градуса са већином истих варијабли (инвазија лимфних судова, метастазе у лимфним чворовима и стадијум туморске болести) су јаче и високо сигнификантне ($k_k=0.566$, 0.520 и 0.578). За разлику од интестиналног, код овог типа тумора изостала је сигнификантност везе са удаљеним метастазама, али је повезаност са патолошким стадијумом високо значајна ($k_k=0.522$).

Инвазија лимфних судова корелира са осталим варијаблама хистопатолошког статуса на сличан начин између карцинома. Ипак, примјетно је и у овом случају, да су “јаче” везе успостављене у оквиру дифузног карцинома желуца.

У интестиналном карциному постоје значајне, умјерене и позитивне корелације инвазије лимфних судова постоји према метастазама у лимфним чворовима (0.722), стадијуму туморске болести (0.653), инвазији крвних судова (0.509) и патолошком стадијуму тумора (0.419). У дифузном карциному је изразитија повезаност инвазије лимфних судова са метастазама у лимфним чворовима (0.752), са стадијумом туморске болести (0.735), са инвазијом крвних судова (0.549) и са патолошким стадијумом тумора (0.584), што се види из величине коефицијента корелације и његове значајности.

Слична је ситуација у корелацији инвазије крвних судова према осталим варијаблама. У интестиналном карциному, слабијим коефицијентима корелације у односу на инвазију лимфних чворова, инвазија крвних судова је у вези са метастазама у лимфним чворовима (0.401), са патолошким стадијумом тумора (0.389), стадијумом туморске болести (0.353) и са удаљеним метастазама (0.299). И у овом случају коефицијенти корелације у дифузном карциному су виши и значајнији него у интестиналном карциному желуца. Тако је инвазија крвних судова повезана са стадијумом туморске болести (0.542), метастазама у лимфним жлијездама (0.498), са удаљеним метастазама (0.433) и са патолошким стадијумом тумора (0.425).

Метастазе у лимфним чворовима су у сигнификантној, али слабијој корелативној зависности са удаљеним метастазама (0.333) и то само у дифузном, док у интестиналном карциному не постоји значајна зависност између ових параметара. Метастазе у лимфним чворовима су у интестиналном карциному у слабој (0.337), а у дифузном карциному у умјереној корелацији (0.530), која је високо сигнификантна, са патолошким стадијумом тумора. Висок степен међузависности постоји између метастаза у лимфним чворовима и стадијума туморске болести код оба типа тумора, а нарочито у дифузном карциному, ($\kappa\kappa=0.878$), док је у интестиналном типу ова међузависност незнатно слабија, али такође високо значајна ($\kappa\kappa=0.849$).

Удаљене метастазе су у нешто бољој корелацији са патолошким стадијумом тумора у интестиналном карциному ($\kappa\kappa=0.575$), него у дифузном ($\kappa\kappa=0.477$). Међутим, удаљене метастазе су у доброј, позитивној и сигнификантној корелацији ($\kappa\kappa=0.554$) са стадијумом туморске болести у дифузном, док у интестиналном тумору нема сигнификантне везе овог пара варијабли.

Патолошки стадијум тумора је у умјереној, позитивној вези са стадијумом туморске болести у интестиналном карциному ($\kappa\kappa=0.502$), док је у високој, позитивној и високо сигнификантној међузависности са стадијумом туморске болести у дифузном карциному ($\kappa\kappa=0.822$).

6.3.2. Међусобна повезаност Ki67, p53, Stathmina 1, E-cadherina и Bcl-2 по типу карцинома желуца

Анализа степена међусобних веза испитиваних маркера је показала, посредством матрице корелација, да је мали број маркера који су у значајној корелацији у интестиналном карциному. У овом тумору је запажен слаб степен међусобне повезаности индекса

пролиферације Ki67 и експресије Vcl-2, дефинисан негативним коефицијентом од $кк=-0.371$, али који је сигнификантан. Негативан предзнак коефицијента показује да ће, при високим вриједностима индекса пролиферације, Vcl-2 имати ниже експресије. Сљедећа сигнификантна корелација, код овог типа карцинома, је између експресије E-Cadherin-а и експресије Vcl-2 ($кк=0.316$). И у овом случају је коефицијент корелације у рангу слабе међусобне везе, али позитивног предзнака. То значи да је тенденција експресија оба маркера истог смјера: нижим експресијама E-Cadherin-а одговараће ниже експресије Vcl-2, и обрнуто. Између индекса експресије Stathmina 1 и експресије p53 постоји слаба позитивна корелација ($кк=0,295$), на граници статистичке значајности у интестиналном карциному.

У дифузном карциному желуца, скоро сви потенцијални биомаркери су у међусобном односу који је сигнификантан, а изузетак су експресија E-Cadherin-а и експресија Vcl-2, између којих корелација није значајна. Као што је претходно утврђено, ова два маркера су у значајној корелацији у интестиналном карциному.

Изражено висока и сигнификантна међусобна зависност постоји између индекса пролиферације/Ki67 и индекса експресије Stathmina 1 ($кк=0.922$) у дифузном карциному. Индекс пролиферације/Ki67 је, у истом типу карцинома, у међусобној умјереној, негативној корелацији и са експресијом Vcl-2 ($кк=-0.693$) и позитивној са експресијом p53 ($кк=0.614$), које су високо сигнификантне. Слаба је и негативна корелација између индекса пролиферације/Ki67 и експресије E-Cadherin-а ($кк=-0.359$). Индекс експресије Stathmina 1, који је у интестиналног карциному у слабој међузависности, у дифузном карциному је умјереним позитивним и високо сигнификантним коефицијентом корелације повезан са експресијом p53. Сљедећа значајна повезаност индекса експресије Stathmin 1 је са Vcl-2 а дефинисана је негативним умјереним коефицијентом корелације (-0.684). У овом карциному, експресија Stathmina 1 је у међусобној, негативној корелацији и са експресијом E-Cadherin-а (-0.445).

Сигнификантна је умјерена веза експресија p53 и Vcl-2 дефинисана негативним коефицијентом корелације -0.548 . Нешто слабија, негативна повезаност експресија постоји између p53 и E-Cadherin-а ($кк=-0.309$), у дифузном карциному.

6.3.3. Повезаност експресије Stathmina 1, Ki67, E-cadherina, p53, Vcl-2 са клиничко-патолошким варијаблама по типу карцинома желуца

Корелациона анализа показује да је индекс пролиферације/експресија Ki67 значајним, високим коефицијентима корелације повезан са метастазама у лимфним чворовима и стадијумом туморске болести у интестиналном карциному ($кк=0.756$ и 0.722). Исти случај је и у дифузном карциному, али је веза индекса пролиферације /експресије Ki67 и ова два параметра још јача и дефинисана је значајним, највишим коефицијентима корелације ($кк=0.898$ и 0.881).

Индекс пролиферације/експресија Ki67 је значајним, умјерено високим коефицијентима корелације, повезан са инвазијом лимфних судова, патолошким стадијумом и хистолошким градусом тумора ($кк=0.556$, 0.503 и 0.399) у интестиналном карциному. Исти редослијед, по степену позитивне корелативне везе, постоји између индекса пролиферације/експресије Ki67 и инвазије лимфних судова, патолошког стадијума и хистолошког градуса тумора и у дифузном карциному, али је степен корелације (везе) већи ($кк=0.687$, 0.598 и 0.475). За разлику од интестиналног карцинома, у овом карциному,

значајне су још двије слабије корелације - између индекса пролиферације и инвазије крвних судова ($кк=0.436$) и удаљених метастаза ($кк=0.346$).

Индекс експресије тумор супресор протеина p53 је значајним, коефицијентима корелације повезан са хистолошким градусом тумора ($кк=0.391$) и старосним добом испитаника ($кк=0.348$), у интестиналном карциному. У дифузном карциному желуца индекс експресије p53 је значајним, позитивним и умјереним коефицијентима корелације повезан са стадијумом туморске болести ($кк=0.656$), са инвазијом лимфних судова ($кк=0.556$), са метастазама у лимфним чворовима ($кк=0.554$), са хистолошким градусом ($кк=0.486$) и са инвазијом крвних судова ($кк=0.306$).

Корелативном анализом индекса експресије Stathmina 1, у интестиналном карциному, је запажена његова значајна, позитивна повезаност само са инвазијом крвних судова, која је у рангу слабије везе ($кк=0.326$). У дифузном карциному желуца је индекс експресије Stathmina 1 значајним, позитивним, највишим и високим коефицијентима корелације повезан са стадијумом туморске болести ($кк=0.890$), са метастазама у лимфним чворовима ($кк=0.879$), са инвазијом лимфних судова ($кк=0.689$), са хистолошким градусом ($кк=0.654$) и са патолошким стадијумом тумора ($кк=0.647$). Нешто слабијим, позитивним, али значајним коефицијентима корелације индекс експресије Stathmina 1 је повезан са инвазијом крвних судова и удаљеним метастазама ($кк=0.451, 0.344$).

Експресија E-cadherina је слабир, али значајним и негативним коефицијентима корелације повезана са удаљеним метастазама, инвазијом крвних и лимфних судова, метастазама у лимфним чворовима и стадијумом туморске болести ($кк=-0.409, -0.359, -0.326, -0.315$ и -0.301), у интестиналном карциному. У дифузном карциному издвајају се везе експресије E-cadherina са инвазијом лимфних судова ($кк=-0.566$) и хистолошким градусом ($кк=-0.544$) јер су дефинисане јачим негативним коефицијентима корелације, а слиједи, повезаност експресије E-cadherina са метастазама у лимфним чворовима и стадијумом туморске болести са којима су везе слабије ($кк=-0.371$ и -0.346). Једина слаба корелација која је позитивна код овог маркера је према локализацији тумора ($кк=0.362$).

У интестиналном карциному желуца експресија Vcl-2 је значајним, негативним високим коефицијентима корелације повезана са инвазијом лимфних судова ($кк=-0.612$), и метастазама у лимфним чворовима ($кк=-0.612$). Нешто слабија, негативна корелативна зависност постоји према стадијуму туморске болести ($кк=-0.471$), инвазији крвних судова ($кк=-0.461$) и хистолошком градусу тумора ($кк=-0.339$). У овом типу тумора значајна је и слаба веза са макроскопским типом тумора ($кк=-0.399$). У дифузном карциному желуца експресија Vcl-2 је високо значајним, негативним коефицијентом корелације повезана са инвазијом лимфних судова ($кк=-0.722$), метастазама у лимфним чворовима ($кк=-0.722$), стадијумом туморске болести ($кк=-0.690$), патолошким стадијумом тумора ($кк=-0.545$), инвазијом крвних судова ($кк=-0.518$) и хистолошким градусом тумора ($кк=-0.441$).

У интестиналном карциному је веза Vcl-2, према патолошком стадијуму тумора није значајна. У овом типу тумора значајна је и слаба веза са макроскопским типом тумора која код дифузног карцинома није значајна.

Експресија E-cadherina и Vcl2 су у слабој, негативној корелативној зависности и према хистолошком типу оба тумора ($кк=-0.339$ – интестинални и -0.441 – дифузни.).

6.4. Гранична вриједност (cut off) Stathmina 1 и Ki67 у дифузном карциному желуца

Резултати претходних анализа недвосмислено показују доминацију дифузног карцинома у смислу заступљености броја значајних варијабли које су биле предмет поређења или корелације.

Ова чињеница, као и резултати имунохистохемијског испитивања експресије Ki67 и Stathmina 1 у интестиналном и дифузном карциному желуца и у сусједном нетуморском ткиву, створили су услове за процјену граничне вриједности ових експресија. Она се односи на могућност диференцијалне дијагностике дифузног карцинома у односу на интестинални и нетуморско ткиво. Посебан значај показује могућност да се испита гранична вриједност Stathmina 1, као недовољно испитаног маркера. Примјеном ROC (receiver operating characteristics) анализе одређене су граничне вриједности Stathmina 1 и пролиферативног антигена Ki67, при чему је показано да су оба добри дијагностички маркери уз извјесну предност Stathmina 1 у односу на Ki67 у дифузном карциному желуца.

*

* *

Комплексна патогенеза и многобројне различитости које постоје између интестиналног и дифузног карцинома желуца, условили су потребу за новим биомаркерима који би били од користи прије свега у раној, неинвазивној дијагностици и праћењу биолошког понашања туморске болести. У складу са тим и постављеним циљевима у овој студији, наш задатак је био да испитамо дијагностички и прогностички потенцијал микротубуларног, регулаторног протеина Stathmina 1 у интестиналном и у дифузном карциному желуца.

Оригиналноост ове студије се огледа у томе што је први пут компаративном анализом у карциному желуца показана значајна повезаност индекса експресије Stathmina 1 са другим традиционално коришћеним, добро познатим биомаркерима.

Последње деценије је у научној јавности снажно подржан концепт примјене комплементарне терапије у лијечењу малигних тумора, који подразумијева да се на сваки од агресивних аспеката канцера (пролиферацију, неоангиогенезу, редукцију ћелијске адхезије, резистенцију на апоптозу итд.) дјелује циљаном терапијом.

Надамо се да смо расвјетљавајући функције и значај Stathmina 1 учинили корак напријед у разумијевању патогенезе и сагледавању фенотипских различитости између интестиналног и дифузног карцинома желуца и на тај начин можда пружили полазну тачку за израду нових терапијских модалитета.

Имајући у виду ограничења имунохистохемијских анализа, сматрамо да су неопходна даља, прије свега молекулска истраживања, којим би се потврдиле дијагностичке и /или терапијске перформансе Stathmina 1 у карциному желуца.

7. ЗАКЉУЧАК

1. Код пацијената са интестиналним карциномом желуца у сигнификантном броју случајева (у око 2/3) преовлађује мушки пол, док се дифузни карцином јавља са једнаком учесталošћу код мушкараца и код жена.
2. Жене са интестиналним карциномом сигнификантно су старије (70.9 ± 6.78) од жена са дифузним карциномом желуца (60.8 ± 11.9).
3. Најчесталија локализација како интестиналног, тако и дифузног карцинома је доња половина желуца и најчешће се презентују као улцерозно-инфилтративна и улцерозна промјена.
4. а) Највећи број интестиналних карцинома је дијагностикован као умјерено диферентован тип и класификован у рТ3 и ПВ стадијум туморске болести.
б) Највећи број дифузних карцинома је дијагностикован као слабо диферентован тип и класификован у рТ3 и у ШВ стадијум туморске болести.
5. а) Индекс пролиферације је сигнификантно повезан са инвазијом лимфних судова, метастазама у лимфним чворовима, хистолошким градусом и са стадијумом тумора у интестиналном карциному.
б) Индекс пролиферације је и у дифузном карциному значајно повезан са инвазијом лимфних судова, метастазама у лимфним чворовима, хистолошким градусом и са стадијумом тумора, али је ова веза још јача и дефинисана је високо значајним, највишим коефицијентима корелације.
в) За разлику од интестиналног, у дифузном карциному постоји и значајна веза између индекса пролиферације и инвазије крвних судова и удаљених метастаза.
6. а) Постоји значајна, али слаба повезаност индекса експресије Stathmina 1, само са инвазијом крвних судова у интестиналном карциному.
б) У дифузном карциному желуца је индекс експресије Stathmina 1 значајним, позитивним, највишим и високим коефицијентима корелације повезан са стадијумом тумора, са метастазама у лимфним чворовима, са инвазијом лимфних судова и са хистолошким градусом тумора. Нешто слабија, али значајна повезаност постоји између индекса експресије Stathmina 1 са инвазијом крвних судова и удаљеним метастазама.
7. а) У интестиналном карциному желуца је нађена слаба али значајна инверзна повезаност експресије E-cadherina са удаљеним метастазама, инвазијом крвних и лимфних судова, метастазама у лимфним чворовима и стадијумом тумора.
б) У дифузном карциному желуца је идентификована значајна, јака инверзна повезаност експресије E-cadherina са инвазијом лимфних судова, са метастазама у лимфним чворовима, са стадијумом, са хистолошким градусом тумора и са локализацијом тумора у желуцу.

8.
 - а) Индекс експресије тумор супресор протеина p53 је сигнификантно повезан само са хистолошким градусом тумора у интестиналном карциному.
 - б) У дифузном карциному желуца осим повезаности са хистолошким градусом, јаке значајне везе постоје и између индекса експресије p53 и инвазије лимфних судова, метастаза у лимфним чворовима и стадијума туморске болести.

9.
 - а) Експресија анти-апоптотичног онкопротеина Bcl-2 је карактеристична по значајним инверзним везама које има са инвазијом лимфних и крвних судова, са метастазама у лимфним чворовима, стадијумом и хистолошким градусом тумора у интестиналном карциному.
 - б) У дифузном карциному желуца постоји високо значајна, такође инверзна, повезаност експресија Bcl-2 са инвазијом лимфних и крвних судова, метастазама у лимфним чворовима, стадијумом и хистолошким градусом тумора.

10.
 - а) У интестиналном карциному желуца постоји слаб степен међусобне повезаности индекса пролиферације са осталим испитиваним маркерима.
 - б) У дифузном карциному желуца, сви испитивани маркери су у међусобном односу који је сигнификантан, али је најочљивија висока и сигнификантана међусобна зависност која постоји између индекса пролиферације/експресије Ki67 и индекса експресије Stathmin 1.

11. Упоређењем дијагностичког значаја пролиферативног Ki67 антигена и микротубуларног протеина Stathmin 1, примјеном ROC (receiver operating characteristics) анализе, за оба регулаторна протеина потврђене су добре дијагностичке перформансе, уз извјесну предност Stathmin 1 у односу на Ki67 у дифузном карциному желуца.

8. ОПШТИ ЗАКЉУЧАК

У дифузном карциному је пораст индекса експресије Stathmina 1 праћен повећаним пролиферативним индексом, редукцијом ћелијске адхезије, редукцијом апоптозе и порастом метастатског потенцијала, због чега овај онкопротеин може бити атрактивна терапијска мета у циљаној терапији дифузног карцинома желуца.

9. ЛИТЕРАТУРА

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ward E, Ferlay J, Forman D: Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61:69–90.
2. Lauwers GY, Carneiro F, Graham DY, Curado MP, Franceschi S, Montgomery E, Tatematsu M, Hattori T: Gastric carcinoma. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (eds): *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. 4th edn IARC press, Lyon 2010
3. Rosai J: Rosai i Ackerman-ova Kirurška Patologija. 9. prevedeno izdanje, Školska knjiga, Zagreb 2010, str 648-711
4. Shin CM, Kim N, Jung Y, Park JH, Kang GH, Kim JS, Jung HC, Song IS.: Role of *Helicobacter pylori* infection in aberrant DNA methylation along multistep gastric carcinogenesis. *Cancer Sci*. 2010;101(6):1337-46.
5. Correa P, Piazuelo MB. The gastric precancerous cascade. *J Dig Dis*. 2012; 13: 2-9.
6. Bamboat ZM, Tang LH, Vinuela E, Kuk D, Gonen M, Shah MA, Brennan MF, Coit DG, Strong VE. Stage-stratified prognosis of signet ring cell histology in patients undergoing curative resection for gastric adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2014;21(5):1678-85.
7. Chiaravalli AM, Klersy C, Tava F, Manca R, Fiocca R, Capella C, Solcia E. Lower- and higher-grade subtypes of diffuse gastric cancer. *Hum Pathol*. 2009;40(11):1591-9
8. Singer S, Ehemann V, Brauckhoff A, Keith M, Vreden S, Schirmacher P, Breuhahn K: Protumorigenic overexpression of stathmin/Op18 by gain-of-function mutation in p53 in human hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2009; 46: 759–768
9. Akhtar J, Wang Z, Zhang ZP, Bi MM. Lentiviral-mediated RNA interference targeting stathmin1 gene in human gastric cancer cells inhibits proliferation in vitro and tumor growth in vivo. *J Transl Med*. 2013 ;16;11:212 doi: 10.1186/1479-5876-11-212.
10. Jeon TY, Han ME, Lee YW, Lee YS, Kim GH, Song GA, Hur GY, Kim JY, Kim HJ, Yoon S, Baek SY, Kim BS, Kim JB, Oh SO. Overexpression of stathmin1 in the diffuse type of gastric cancer and its roles in proliferation and migration of gastric cancer cells. *Br J Cancer*. 2010;102(4):710-8.
11. Chen X, Wang Y, Xia H, et al: Loss of E-cadherin promotes the growth, invasion and drug resistance of colorectal cancer cells and is associated with liver metastasis. *Mol Biol Rep* 2012;39: 6707-6714
12. Yan HB, Wang XF, Zhang Q, Tang ZQ, Jiang YH, Fan HZ, Sun YH, Yang PY, Liu F. Reduced expression of the chromatin remodeling gene ARID1A enhances gastric cancer cell migration and invasion via downregulation of E-cadherin transcription. *Carcinogenesis*. 2014;35(4):867-76.
13. Arévalo F, Monge E, Morales D. E-cadherin molecular expression in the diffuse and intestinal types of gastric adenocarcinoma. A report from Lima, Peru. *Rev Esp Enferm Dig*. 2007;99(6):325-9.
14. Habberstad AH, Gulati S, Torp SH. Evaluation of the proliferation markers Ki-67/MIB-1, mitotin, survivin, pHH3, and DNA topoisomerase II α in human anaplastic astrocytomas--an immunohistochemical study. *Diagn Pathol*. 2011; 24;6:43-8
15. Gadea G, de Toledo M, Anguille C, Roux P. Loss of p53 promotes RhoA-ROCK-dependent cell migration and invasion in 3D matrices. *J Cell Biol*. 2007 ;178(1):23-30.
16. Fresquet V, Rieger M, Carolis C, García-Barchino MJ, Martínez-Climent JA. Acquired mutations in BCL2 family proteins conferring resistance to the BH3 mimetic ABT-199 in lymphoma. *Blood*. 2014;123(26):4111-9.

17. Ayed DB, Khabir A, Abid M, Bayrouiti MI, Gargouri A, Sellami-Boudawara T, Mokdad-Gargouri R. Clinicopathological and prognostic significance of p53, Ki-67, and Bcl-2 expression in Tunisian gastric adenocarcinomas. *Acta Histochem.* 2014; 116(8):1244-50.
18. Sadler TW: Langmanova medicinska embriologija, 10 prevedeno izdanje, Skolska knjiga, Zagreb 2009
19. Nikolić I, Rančić G, Radenković G, Lačković V, Todorović V, Mitić D, Mihailović D. U: Nikolić I. (ed) Embriologija čoveka - tekst i atlas. 4. izdanje. *Data status*, Beograd, 2010: Poglavlje 26, 191-208
20. Carlson BM: Human embryology and developmental biology. (4th ed). Elsevier Saunders Philadelphia, 2009, Chapter 15: 361-401.
21. Owen D.A: Stomach. In Mills SE (ed): *Histology for Pathologists.*(3rdEdn), Lippincott Williams &Wilkins, 2007,pp 589-602
22. Martini F, Talilitsch R , Nath J. Human Anatomy. Pearson; 9th edition. January 3, 2017
23. Marieb NE, Brady PM, Mallatt JB: Human Anatomy. Pearson; 9th edition. January 14, 2019
24. Brunicardi F., Andersen D., Billiar T., Dunn D., Hunter J., Kao L., Matthews J. Pollock R. Schwartz`s principles of surgery 11th edition. McGraw-Hill Education / Medical; 11th edition. May 29, 2019.
25. Redel CA, Zwiener RJ: Anatomy and anomalies of the stomach and duodenum. In: Feldman F, Scharschmidt BF, Sleisenger NH (eds): *Fortran`s Gastrointestinal and Liver Disease.* 6th ed.,WB Saunders Company. Philadelphia, 1998
26. Somer LJ I Anđelković Z: Digestivni trakt . U: Anđelković Z, Somer LJ, Perović M, Avramović V, Milenkova LJ, Kostovska N, Petrović A (Eds) : *Histološka građa organa.* Bonafides, 2001, pp 40-53.
27. Junqueira LC, Carneiro J: *Osnovi histologije.* 11 prevedeno izdanje. Data status, Beograd, 2005.
28. Mills JC, Shivdasani RA. Gastric epithelial stem cells. *Gastroenterology.* 2011; 140:412–24.
29. Hoffmann W. Stem cells, self-renewal and cancer of the gastric epithelium. *Curr Med Chem.* 2012;19:5975–83
30. Barker N, Huch M, Kujala P, van de Wetering M, Snippert HJ, van Es JH, et al. Lgr5+ve stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro. *Cell Stem Cell.* 2010; 6:25–36.
31. Qiao XT, Gumucio DL. Current molecular markers for gastric progenitor cells and gastric cancer stem cells. *J Gastroenterol.* 2011; 46:855–65.
32. Hoffmann W. Regeneration of the gastric mucosa and its glands from stem cells. *Curr Med Chem.* 2008; 15:3133–44.
33. Singh SR. Gastric cancer stem cells: a novel therapeutic target. *Cancer Lett.* 2013 ;10;338(1):110- 119.
34. Jass JR, Robertson AM. Colorectal mucin histochemistry in health and disease: A critical review. *Pathol Int* 1994; 44:487–504.
35. Barchi JJ Jr. Mucin-type glycopeptide structure in solution: past, present, and future. *Biopolymers.* 2013;99(10):713-23.
36. Inagaki Y, Xu H, Nakata M, Seyama Y, Hasegawa K, Sugawara Y, Tang W, Kokudo N. Clinicopathology of sialomucin: MUC1, particularly KL-6 mucin, in gastrointestinal, hepatic and pancreatic cancers. *Biosci Trends.* 2009; 3(6):220-32.

37. Adler KB, Tuvim MJ, Dickey BF. Regulated mucin secretion from airway epithelial cells. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:129-136
38. Dharmaraj N, Chapela PJ, Morgado M, Hawkins SM, Lessey BA, Young SL, Carson DD. Expression of the transmembrane mucins, MUC1, MUC4 and MUC16, in normal endometrium and in endometriosis. *Hum Reprod*. 2014;29(8):1730-8
39. Jass JR, Walsh MD. Altered mucin expression in the gastrointestinal tract: a review. *J Cell Mol Med* 2001; 5:327-51
40. Kesimer M, Makhov AM, Griffith JD, Verdugo P, Sheehan JK. Unpacking a gel-forming mucin: a view of MUC5B organization after granular release. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2010;298(1):L15-22.
41. Gendler SJ, Spicer AP. Epithelial mucin genes. *Annu Rev Physiol* 1995;57:607–34.
42. Hollingsworth MA, Swanson BJ. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer* 2004; 4:45-60.
43. Antonioli DA, Madora LJ. Functional anatomy of the gastrointestinal tract. U: Ming Si-Chun, Goldman H. Pathology of the gastrointestinal tract. Baltimore, Maryland USA: William Wilkins 1998, 13-33.
44. Šegović R: Regulacija gastrointestinalne funkcije, U: Ganong WF. Pregled medicinske fiziologije. 13-to prevedeno izdanje. Savremena administracija, Beograd, 1991, str.457-486
45. Ohsawa T, Hirata W, Higuchi S. Effects of three H2-receptor antagonists (cimetidine, famotidine, ranitidine) on serum gastrin level. *Int J Clin Pharmacol Res*. 2002;22(2):29-35.
46. Ajeigbe KO, Emikpe BO, Olaleye SB. Augmentation of gastric acid secretion by chloroquine and amodiaquine in the rat stomach. *Niger J Physiol Sci*. 2012 ;7;27(1):89-94.
47. Farré R, Tack J. Food and symptom generation in functional gastrointestinal disorders: physiological aspects. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(5):698-706.
48. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2013 [cited 2014 Apr 25]. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
49. Hartgrink HH, Jansen EP, van Grieken NC, van de Velde CJ. Gastric cancer. *Lancet*. 2009;8;374(9688):477-90.
50. Parkin DM: International variation. *Oncogene* 2004; 23: 6329-6340
51. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2012; 62(1):10-29.
52. Fock KM. Review article: the epidemiology and prevention of gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;40(3):250-60.
53. Park JY, von Karsa L, Herrero R. Prevention strategies for gastric cancer: a global perspective. *Clin Endosc*. 2014;47(6):478-89.
54. Ilić M: Maligni tumori želuca: U: M Ilić (ed): Maligni tumori-odabrana poglavlja. Medicinski fakultet Univerziteta u Kragujevcu, Kragijevac 2012, str 59-64.
55. Markovic-Denic L, Cirkovic A, Zivkovic S, Stanic D, Skodric-Trifunovic V. Cancer mortality in central Serbia. *J BUON*. 2014;19(1):273-7.
56. Yamashita K, Sakuramoto S, Kikuchi S, Katada N, Kobayashi N, Watanabe M. Surgical resection of stage IV gastric cancer and prognosis. *Anticancer Res*. 2007;27(6C):4381-6.
57. Chang YR, Han DS, Kong SH, Lee HJ, Kim SH, Kim WH, Yang HK. The value of palliative gastrectomy in gastric cancer with distant metastasis. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(4):1231-9.

58. Yan S, Li B, Bai ZZ, Wu JQ, Xie DW, Ma YC, Ma XX, Zhao JH, Guo XJ. Clinical epidemiology of gastric cancer in Hehuang valley of China: a 10-year epidemiological study of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014 ;14;20(30):10486-94.
59. Loh YH, Jakszyn P, Luben RN, Mulligan AA, Mitrou PN, Khaw KT. N-Nitroso compounds and cancer incidence: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Norfolk Study. *Am J Clin Nutr* 2011;93:1053-1061
60. Park JY, Forman D, Greenberg ER, Herrero R. Helicobacter pylori eradication in the prevention of gastric cancer: are more trials needed? *Curr Oncol Rep* 2013;15:517-525.
61. Jiang X, Tseng CC, Bernstein L, Wu AH. Family history of cancer and gastroesophageal disorders and risk of esophageal and gastric adenocarcinomas: a case-control study. *BMC Cancer*. 2014 Feb 4;14:60. doi: 10.1186/1471-2407-14-60.
62. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol*. 2003;56(1):1-9.
63. Maskarinec G, Noh JJ. The effect of migration on cancer incidence among Japanese in Hawaii. *Ethn Dis*. 2004 Summer;14(3):431-9.
64. Uthman OA, Jadidi E, Moradi T. Socioeconomic position and incidence of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Epidemiol Community Health*. 2013 ;67(10):854-60
65. Torres-Cintrón M, Ortiz AP, Ortiz-Ortiz KJ, Figueroa-Vallés NR, Pérez-Irizarry J, Díaz-Medina G, De la Torre-Feliciano T, Suárez-Pérez E. Using a socioeconomic position index to assess disparities in cancer incidence and mortality, Puerto Rico, 1995-2004 *Prev Chronic Dis*. 2012;9:E15. Epub 2011 Dec 15.
66. Siemerink EJ, Hospers GA, Mulder NH, Siesling S, van der Aa MA. Disparities in survival of stomach cancer among different socioeconomic groups in North-East Netherlands. *Cancer Epidemiol*. 2011;35(5):413-6.
67. Kuwahara A, Takachi R, Tsubono Y, Sasazuki S, Inoue M, Tsugane S; JPHC Study Group. Socioeconomic status and gastric cancer survival in Japan. *Gastric Cancer*. 2010;13(4):222-30.
68. Song P, Lu M, Yin Q, Wu L, Zhang D, Fu B, Wang B, Zhao Q. Red meat consumption and stomach cancer risk: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014 ;140(6):979-92
69. Chirinos JL, Carbajal LA, Segura MD, Combe J, Akiba S. Gastric cancer: epidemiologic profile 2001-2007 in Lima, Peru . *Rev Gastroenterol Peru*. 2012 ;32(1):58-64.
70. Cross AJ, Freedman ND, Ren J, Ward MH, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Sinha R, Abnet CC. Meat consumption and risk of esophageal and gastric cancer in a large prospective study. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(3):432-42.
71. Ferrari F, Reis MA. Study of risk factors for gastric cancer by populational databases analysis. *World J Gastroenterol*. 2013;19(48):9383-91.
72. Lin SH, Li YH, Leung K, Huang CY, Wang XR. Salt processed food and gastric cancer in a Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(13):5293-8.
73. Kato S, Tsukamoto T, Mizoshita T, et al. High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. *Int J Cancer* 2006;119:1558-1566
74. Gaddy JA, Radin JN, Loh JT, et al. High dietary salt intake exacerbates Helicobacter pylori-induced gastric carcinogenesis. *Infect Immun* 2013;81:2258-2267

75. Tsugane S, Sasazuki S, Kobayashi M, Sasaki S. Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. *Br J Cancer* 2004;90:128-134.
76. World Cancer Research Fund; American Institute for Cancer Research. Stomach. In: World Cancer Research Fund; American Institute for Cancer Research, eds. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: WCRF/AICR; 2007. p. 265-270.
77. Mitacek EJ, Brunnemann KD, Suttajit M, Caplan LS, Gagna CE, Bhothisuwan K, Siriamornpun S, Hummel CF, Ohshima H, Roy R, Martin N. Geographic distribution of liver and stomach cancers in Thailand in relation to estimated dietary intake of nitrate, nitrite, and nitrosodimethylamine. *Nutr Cancer*. 2008;60(2):196-203.
78. Jakszyn P, Bingham S, Pera G, et al. Endogenous versus exogenous exposure to N-nitroso compounds and gastric cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST) study. *Carcinogenesis* 2006;27:1497-1501.
79. Tong GX, Liang H, Chai J, Cheng J, Feng R, Chen PL, Geng QQ, Shen XR, Wang DB. Association of risk of gastric cancer and consumption of tobacco, alcohol and tea in the chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(20):8765-74.
80. Pandey A, Tripathi SC, Mahata S, Vishnoi K, Shukla S, Misra SP, Misra V, Hedau S, Mehrotra R, Dwivedi M, Bharti AC. Carcinogenic Helicobacter pylori in gastric pre-cancer and cancer lesions: association with tobacco-chewing. *World J Gastroenterol*. 2014;20(22):6860-8.
81. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, Fedirko V, Scotti L, Jenab M, Turati F, Pasquali E, Pelucchi C, Galeone C, Bellocco R, Negri E, Corrao G, Boffetta P, La Vecchia C. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose-response meta-analysis. *Br J Cancer*. 2014 Nov 25. doi: 10.1038/bjc.2014.579.
82. Koizumi Y, Tsubono Y, Nakaya N, Kuriyama S, Shibuya D, Matsuoka H, Tsuji I. Cigarette smoking and the risk of gastric cancer: a pooled analysis of two prospective studies in Japan. *Int J Cancer*. 2004, 20;112(6):1049-55.
83. Guo L, Li N, Wang G, Su K, Li F, Yang L, Ren J, Chang S, Chen S, Wu S, He J, Dai M. Body mass index and cancer incidence: a prospective cohort study in northern China. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2014;35(3):231-6.
84. Olfson S, Moss SF. Obesity and related risk factors in gastric cardia adenocarcinoma. *Gastric Cancer*. 2015;18(1):23-32.
85. Liao LM, Hofmann JN, Kamangar F, Strickland PT, Ji BT, Yang G, Li HL, Rothman N, Zheng W, Chow WH, Gao YT, Shu XO. Polycyclic aromatic hydrocarbons and risk of gastric cancer in the Shanghai Women's Health Study. *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2014;5(3):140-4
86. Camargo MC, Kim WH, Chiaravalli AM, et al. Improved survival of gastric cancer with tumour Epstein-Barr virus positivity: an international pooled analysis. *Gut* 2014;63:236-243.
87. Murphy G, Pfeiffer R, Camargo MC, Rabkin CS. Meta-analysis shows that prevalence of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer differs based on sex and anatomic location. *Gastroenterology*. 2009; 137: 824-33.
88. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*. 2000; 404: 398-402.

89. Camargo MC, Mera R, Correa P, Peek RM, Jr., Fontham ET, Goodman KJ, *et al.* Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15: 1674-87.
90. Persson C, Canedo P, Machado JC, El-Omar EM, Forman D. Polymorphisms in inflammatory response genes and their association with gastric cancer: A HuGE systematic review and meta-analyses. *Am J Epidemiol.* 2011; 173: 259-70.
91. Tu S, Bhagat G, Cui G, Takaishi S, Kurt-Jones EA, Rickman B, *et al.* Overexpression of interleukin-1beta induces gastric inflammation and cancer and mobilizes myeloid-derived suppressor cells in mice. *Cancer Cell.* 2008; 14: 408-19.
92. Saeki N, Ono H, Sakamoto H, Yoshida T. Genetic factors related to gastric cancer susceptibility identified using a genome-wide association study. *Cancer Sci.* 2013; 104: 1-8.
93. Gonzalez CA, Agudo A. Carcinogenesis, prevention and early detection of gastric cancer: where we are and where we should go. *Int J Cancer.* 2012; 130: 745-53.
94. Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Genetics, pathology, and clinics of familial gastric cancer. *Int J Surg Pathol.* 2006; 14: 21-33.
95. Guilford P, Blair V, More H, Humar B. A short guide to hereditary diffuse gastric cancer. *Hered Cancer Clin Pract.* 2007; 5: 183-94.
96. Jiang N, Liang H, Deng J, Liu H, Cui J, Liang Y, Jiao X. Analysis of clinicopathological characteristics and prognosis of 91 patients with familial gastric cancer. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* 2014;17(10):997-1001.
97. Yamada H, Shinmura K, Okudela K, Goto M, Suzuki M, Kuriki K, Tsuneyoshi T, Sugimura H. Identification and characterization of a novel germ line p53 mutation in familial gastric cancer in the Japanese population. *Carcinogenesis.* 2007;28(9):2013-8.
98. Vannella L, Lahner E, Osborn J, Annibale B. Systematic review: gastric cancer incidence in pernicious anaemia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;37(4):375-82
99. Ozawa T, Wachi E, Yamashita N. A case of juvenile polyposis limited to the stomach accompanied by double gastric cancers and Ménétrier's disease. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi.* 2010;107(10):1641-50
100. Remes-Troche JM, Zapata-Colindres JC, Starkman I, De Anda J, Arista-Nasr J, Valdovinos-Diaz MA. Early gastric cancer in Menetrier's disease. *BMJ Case Rep.* 2009;2009. pii: bcr07.2008.0453. doi: 10.1136/bcr.07.2008.0453.
101. Takeno S, Hashimoto T, Maki K, Shibata R, Shiwaku H, Yamana I, Yamashita R, Yamashita Y. Gastric cancer arising from the remnant stomach after distal gastrectomy: a review. *World J Gastroenterol.* 2014;20(38):13734-40.
102. Di Leo A, Pedrazzani C, Bencivenga M, Coniglio A, Rosa F, Morgani P, Marrelli D, Marchet A, Cozzaglio L, Giacomuzzi S, Tiberio GA, Doglietto GB, Vittimberga G, Roviello F, Ricci F. Gastric stump cancer after distal gastrectomy for benign disease: clinicopathological features and surgical outcomes. *Ann Surg Oncol.* 2014;21(8):2594-600.
103. Yamagata H, Kiyohara Y, Aoyagi K, Kato I, Iwamoto H, Nakayama K, Shimizu H, Tanizaki Y, Arima H, Shinohara N, Kondo H, Matsumoto T, Fujishima M. Impact of *Helicobacter pylori* infection on gastric cancer incidence in a general Japanese population: the Hisayama study. *Arch Intern Med.* 2000;160(13):1962-8.
104. Eslick GD. *Helicobacter pylori* infection causes gastric cancer? A review of the epidemiological, meta-analytic, and experimental evidence. *World J Gastroenterol.* 2006;12(19):2991-9.

105. Zhang C, Yamada N, Wu YL, Wen M, Matsuhisa T, Matsukura N. Helicobacter pylori infection, glandular atrophy and intestinal metaplasia in superficial gastritis, gastric erosion, erosive gastritis, gastric ulcer and early gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2005 1;11(6):791-6.
106. Smith MG, Hold GL, Tahara E, El-Omar EM. Cellular and molecular aspects of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2006;12(19):2979-90.
107. Polk DB, Peek RM Jr. Helicobacter pylori: gastric cancer and beyond. *Nat Rev Cancer.* 2010;10(6):403-14.
108. Basso D, Plebani M, Kusters JG. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter.* 2010;15 Suppl 1:14-20.
109. Weeks DL, Eskandari S, Scott DR, Sachs G. A H⁺-gated urea channel: the link between Helicobacter pylori urease and gastric colonization. *Science.* 2000 ;287(5452):482-5.
110. Scott DR, Marcus EA, Weeks DL, Lee A, Melchers K, Sachs G. Expression of the Helicobacter pylori ureI gene is required for acidic pH activation of cytoplasmic urease. *Infect Immun.* 2000;68(2):470-7.
111. Lochhead P, El-Omar EM. Gastric cancer. *Br Med Bull.* 2008;85:87-100.
112. Lochhead P, El-Omar EM. Helicobacter pylori infection and gastric cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2007;21(2):281-97.
113. Türkdöğ an MK, Testereci H, Akman N, Kahraman T, Kara K, Tuncer I, Uygan I. Dietary nitrate and nitrite levels in an endemic upper gastrointestinal (esophageal and gastric) cancer region of Turkey. *Turk J Gastroenterol.* 2003;14(1):50-3.
114. Helicobacter and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut.* 2001; 49: 347-53.
115. Cover TL, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology.* 2009; 136: 1863-73.
116. Weyermann M, Rothenbacher D, Brenner H. Acquisition of Helicobacter pylori infection in early childhood: independent contributions of infected mothers, fathers, and siblings. *Am J Gastroenterol.* 2009;104(1):182-9.
117. Forman D, Pisani P. Gastric cancer in Japan--honing treatment, seeking causes. *N Engl J Med.* 2008 ;359(5):448-51.
118. Huang JQ, Zheng GF, Sumanac K, Irvine EJ, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between cagA seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology.* 2003;125(6):1636-44.
119. Siman JH, Engstrand L, Berglund G, Forsgren A, Floren CH. Helicobacter pylori and CagA seropositivity and its association with gastric and oesophageal carcinoma. *Scand J Gastroenterol.* 2007;42(8):933-40.
120. Hatakeyama M. SagA of CagA in Helicobacter pylori pathogenesis. *Curr Opin Microbiol.* 2008;11(1):30-7
121. Franco AT, Johnston E, Krishna U, Yamaoka Y, Israel DA, Nagy TA, Wroblewski LE, Piazzuelo MB, Correa P, Peek RM Jr. Regulation of gastric carcinogenesis by Helicobacter pylori virulence factors. *Cancer Res.* 2008;68(2):379-87.
122. Cover TL, Blanke SR. Helicobacter pylori VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3(4):320-32
123. Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of Helicobacter pylori. *Gastroenterology.* 2007;133(2):659-72
124. Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S, Sawa H, Miura M, Matsui A, Higashi H, Musashi M, Iwabuchi K, Suzuki M, Yamada G, Azuma T, Hatakeyama M. Transgenic expression of

- Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(3):1003-8.
125. Mimuro H, Suzuki T, Nagai S, Rieder G, Suzuki M, Nagai T, Fujita Y, Nagamatsu K, Ishijima N, Koyasu S, Haas R, Sasakawa C. *Helicobacter pylori* dampens gut epithelial self-renewal by inhibiting apoptosis, a bacterial strategy to enhance colonization of the stomach. *Cell Host Microbe*. 2007;2(4):250-63.
 126. Kuck D, Kolmerer B, Iking-Konert C, Krammer PH, Stremmel W, Rudi J. Vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* induces apoptosis in the human gastric epithelial cell line AGS. *Infect Immun*. 2001;69(8):5080-7.
 127. Gebert B, Fischer W, Weiss E, Hoffmann R, Haas R. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. *Science*. 2003;301(5636):1099-102.
 128. Sundrud MS, Torres VJ, Unutmaz D, Cover TL. Inhibition of primary human T cell proliferation by *Helicobacter pylori* vacuolating toxin (VacA) is independent of VacA effects on IL-2 secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(20):7727-32.
 129. Fujimoto S, Olaniyi Ojo O, Arnqvist A, Wu JY, Odenbreit S, Haas R, Graham DY, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* BabA expression, gastric mucosal injury, and clinical outcome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007 ;5(1):49-58.
 130. Piazuolo MB, Correa P. Gastric cáncer: Overview. *Colomb Med (Cali)*. 2013;44(3):192-201.
 131. Busuttill RA and Boussioutas A. Intestinal metaplasia: a premalignant lesion involved in gastric carcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009; 24(2):193-201.
 132. Correa P, Piazuolo MB, Wilson KT. Pathology of gastric intestinal metaplasia: clinical implications. *Am J Gastroenterol*. 2010;105:493-8.
 133. Correa P, Bolanos O, Garcia F, Gordillo G, Duque E, Cuello C. The Cancer Registry of Cali, Colombia. Epidemiologic studies of gastric cancer. *Recent Results in Cancer Research*. 1975; 50: 155-169.
 134. Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet*. 1975; 2: 58-60.
 135. Correa P, Cuello C, Duque E. Carcinoma and intestinal metaplasia of the stomach in Colombian migrants. *J Natl Cancer Inst*. 1970; 44: 297-306.
 136. Correa P, Cuello C, Duque E, Burbano LC, Garcia FT, Bolaños O, *et al*. Gastric cancer in Colombia. III. Natural history of precursor lesions. *J Natl Cancer Inst*. 1976; 57: 1027-35.
 137. Correa P. Chronic gastritis: a clinico-pathological classification. *Am J Gastroenterol*. 1988;83(5):504-9.
 138. Meining A, Morgner A, Miehlke S, Bayerdörffer E, Stolte M. Atrophy-metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence in the stomach: a reality or merely an hypothesis? *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2001;15(6):983-98.
 139. Bornschein J, Selgrad M, Wex T, Kuester D, Malfertheiner P. Serological assessment of gastric mucosal atrophy in gastric cancer. *BMC Gastroenterol*. 2012;12:10.
 140. Leung WK, Wu MS, Kakugawa Y, Kim JJ, Yeoh KG, Goh KL, *et al*. Screening for gastric cancer in Asia: current evidence and practice. *Lancet Oncol*. 2008;9:279-87.
 141. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN: *Robinsove osnovne patologije*. 8 prevedeno izdanje, Datastatus, Beograd, 2010 str.591-600
 142. Correa P : Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res*. 1992 ;52(24):6735-40.

143. Ohata H, Kitauchi S, Yoshimura N, Mugitani K, Iwane M, Nakamura H, Yoshikawa A, Yanaoka K, Arii K, Tamai H, Shimizu Y, Takeshita T, Mohara O, Ichinose M. Progression of chronic atrophic gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection increases risk of gastric cancer. *Int J Cancer*. 2004 ;109(1):138-43.
144. Kang KP, Lee HS, Kim N, Kang HM, Park YS, Lee DH, Choe G, Kim JS, Jung HC and Song IS. Role of intestinal metaplasia subtyping in the risk of gastric cancer in Korea. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009 ;24(1):140-8
145. de Vries AC, Haringsma J, Kuipers EJ. The detection, surveillance and treatment of premalignant gastric lesions related to *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2007 Feb;12(1):1-15.
146. Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F, Kirchner T. Opinion: migrating cancer stem cells - an integrated concept of malignant tumour progression. *Nat Rev Cancer*. 2005 Sep;5(9):744-9.
147. Lauwers GY, Shimizu M, Correa P, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Evaluation of gastric biopsies for neoplasia: differences between Japanese and Western pathologists. *Am J Surg Pathol*. 1999; 23: 511-8.
148. Jang BG, Kim WH. Molecular pathology of gastric carcinoma. *Pathobiology*. 2011;78(6):302-10.
149. Jiang Z, Liu Z, Li M, Chen C, Wang X. Immunogenomics Analysis Reveals that TP53 Mutations Inhibit Tumor Immunity in Gastric Cancer. *Transl Oncol*. 2018 Jul 27;11(5):1171-1187
150. Fang Z, Xiong Y, Li J, Liu L, Zhang W, Zhang C, Wan J. APC gene deletions in gastric adenocarcinomas in a Chinese population: a correlation with tumour progression. *Clin Transl Oncol*. 2012 Jan;14(1):60-5.
151. de Nascimento Borges B, Burbano RM, Harada ML. Analysis of the methylation patterns of the p16 INK4A, p15 INK4B, and APC genes in gastric adenocarcinoma patients from a Brazilian population. *Tumour Biol*. 2013;34(4):2127-33.
152. Huntsman DG, Carneiro F, Lewis FR, MacLeod PM, Hayashi A, Monaghan KG, et al. Early gastric cancer in young, asymptomatic carriers of germ-line E-cadherin mutations. *N Engl J Med*. 2001 Jun 21;344(25):1904-9.
153. Ascano JJ, Frierson H, Jr., Moskaluk CA, Harper JC, Roviello F, Jackson CE, et al. Inactivation of the E-cadherin gene in sporadic diffuse-type gastric cancer. *Mod Pathol*. 2001 Oct;14(10):942-9.
154. Dussaulx-Garin L, Blayau M, Pagenault M, Le Berre-Heresbach N, Raoul JL, Campion JP, et al. A new mutation of E-cadherin gene in familial gastric linitis plastica cancer with extra-digestive dissemination. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Jun;13(6):711-5.
155. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese Classification of Gastric Carcinoma: 2nd English edition. *Gastric Cancer* 1998;1:10-24
156. Sigon R, Canzonieri V, Rossi C. Early gastric cancer: a single-institution experience on 60 cases. *Suppl Tumori* 2003; 2(5):S23-6.
157. Lazăr D, Tăban S, Sporea I, Dema A, Cornianu M, Lazăr E, Goldiș A, Vernic C. Gastric cancer: correlation between clinicopathological factors and survival of patients. *Rom J Morphol Embryol* 2009;50(2): 185-94.
158. Townsend. Sabiston Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practise. 17 ed: Elsevier Saunders, 2004.

159. Kim HM, Kim HK, Lee SK, Cho JH, Pak KH, Hyung WJ, Noh SH, Kim CB, Lee YC, Song SY, Youn YH. Multifocality in early gastric cancer does not increase the risk of lymph node metastasis in a single-center study. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(4):1251-6.
160. Oohara T, Tohma H, Takezoe K, Ukawa S, Johjima Y, Asakura R, Aono G, Kurosaka H. Minute gastric cancers less than 5 mm in diameter. *Cancer*. 1982 ;50(4):801-10.
161. Kim DY, Hong SJ, Cho GS, Jeong GA, Kim HK, Han JP, Lee YN, Ko BM, Lee MS. Long-term efficacy of endoscopic submucosal dissection compared with surgery for early gastric cancer: a retrospective cohort study. *Gut Liver*. 2014 ;8(5):519-25.
162. Japanese Research Society for Gastric Cancer: The general rules for the gastric cancer. *Jpn. J. Surg*. 1973;8,61-71
163. Kodama Y, Inokuchi K, Soejima K, Matsusaka T, Okamura T. Growth patterns and prognosis in early gastric carcinoma. Superficially spreading and penetrating growth types. *Cancer*. 1983;51(2):320-6.
164. Hattori T. Development of adenocarcinomas in the stomach. *Cancer*. 1986;57(8):1528-34.
165. Hattori T, Sugihara H, Fukuda M, Hamada S, Fujita S. DNA ploidy patterns of minute carcinomas in the stomach. *Jpn J Cancer Res*. 1986;77(3):276-81.
166. Grundmann E, Schlake W. Histological classification of gastric cancer from initial to advanced stages. *Pathol Res Pract*. 1982;173(3):260-74.
167. Grundmann E. Early gastric cancer--today. *Pathol Res Pract*. 1978 ;162(4):347-60.
168. Matsusaka T, Kodama Y, Soejima K, Miyazaki M, Yoshimura K, Sugimachi K, Inokuchi K. Recurrence in early gastric cancer: a pathologic evaluation. *Cancer*. 1980 ;46(1):168-72.
169. Wang Z, Ma L, Zhang XM, Zhou ZX. Risk of lymph node metastases from early gastric cancer in relation to depth of invasion: experience in a single institution. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(13):5371-5.
170. Shim CN, Chung H, Park JC, Lee H, Shin SK, Lee SK, Lee YC. Early gastric cancer with mixed histology predominantly of differentiated type is a distinct subtype with different therapeutic outcomes of endoscopic resection. *Surg Endosc*. 2014 Oct 3. [Epub ahead of print]
171. Son SY, Kim HH. Minimally invasive surgery in gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(39):14132-41
172. Kim BJ, Lee JH, Bae SS, Kim SJ, Son HJ, Rhee PL, Kim JJ, Rhee JC, Son TS, Noh JH, Kim S, Kim KM, Park CK. Endoscopists' view on superficial spreading type of early gastric cancer--endoscopic resection or surgery? *Scand J Gastroenterol*. 2010;45(7-8):909-16.
173. Koessler T, Roth A, Cacheux W. Early gastric cancer: epidemiology, diagnostic and management. *Rev Med Suisse*. 2014 May 21;10(431):1118-22.
174. Abe N, Mori T, Takeuchi H, Yoshida T, Ohki A, Ueki H, et al. Laparoscopic lymph node dissection after endoscopic submucosal dissection: a novel and minimally invasive approach to treating early-stage gastric cancer. *Am J Surg*. 2005;190(3):496-503.
175. Fujishiro M, Yahagi N, Nakamura M, Kakushima N, Kodashima S, Ono S, et al. Successful outcomes of a novel endoscopic treatment for GI tumors: endoscopic submucosal dissection with a mixture of high-molecular-weight hyaluronic acid, glycerin, and sugar. *Gastrointest Endosc*. 2006;63(2):243-9.
176. Abdi-Rad A, Ghaderi-sohi S, Nadimi-Barfroosh H, Emami S. Trend in incidence of gastric adenocarcinoma by tumor location from 1969-2004: a study in one referral center in Iran. *Diagn Pathol*. 2006;1:5.

177. Fenoglio-Preiser C, Carniero F, Correa P et al: Gastric carcinoma In: Hamilton SR, Aaltonen LA(eds): World Health Organisation Classification of Tumours: Tumours of the Digestive System , IARC Press, Lyon, 2000; 37-53
178. Terry MB, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. *Semin Radiat Oncol.* 2002;12(2):111-27.
179. Brown LM, Devesa SS. Epidemiologic trends in esophageal and gastric cancer in the United States. *Surg Oncol Clin N Am.* 2002 Apr;11(2):235-56.
180. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2006;12(3):354-62.
181. Lee JH, Son SY, Lee CM, Ahn SH, Park do J, Kim HH. Factors predicting peritoneal recurrence in advanced gastric cancer: implication for adjuvant intraperitoneal chemotherapy. *Gastric Cancer.* 2014 ;17(3):529-36
182. Townsend. Sabiston Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practise. 17 ed: Elsevier Saunders; 2004.
183. Lauren P: The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal type carcinoma. An attempt a hist-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1965;64:31-49.
184. Nakamura K, Sugano H, Takagi K. Carcinoma of the stomach in incipient phase: its histogenesis and histological appearances. *Gan.* 1968;59(3):251-8
185. Mulligan RM. Histogenesis and biologic behavior of gastric carcinoma. *Pathol Annu.* 1972;7:349-415.
186. Ming SC. Gastric carcinoma. A pathobiological classification. *Cancer.* 1977;39(6):2475-85.
187. Goseki N, Takizawa T, Koike M. Differences in the mode of the extension of gastric cancer classified by histological type: new histological classification of gastric carcinoma. *Gut.* 1992;33(5):606-12.
188. Carniero F: Classification of gastric carcinomas. *Curr Diagn Pathol;* 1997; 4:51-9
189. Han HS, Lee SY, Lee KY, Hong SN, Kim JH, Sung IK, Park HS, Jin CJ, Min YI. Unclassified mucin phenotype of gastric adenocarcinoma exhibits the highest invasiveness. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009 ;24(4):658-66
190. Lee OJ, Kim HJ, Kim JR, Watanabe H. The prognostic significance of the mucin phenotype of gastric adenocarcinoma and its relationship with histologic classifications. *Oncol Rep.* 2009 ;21(2):387-93.
191. Wang X, Wei M, Sun Z. An association study of histological types of gastric carcinoma with *Helicobacter pylori* infection. *Cell Biochem Biophys.* 2014 ;70(2):1283-7.
192. Patru CL, Surlin V, Georgescu I, Patru E. Current issues in gastric cancer epidemiology. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* 2013;117(1):199-204.
193. Japanese Gastric Cancer Association: Japanese Classification of Gastric Carcinoma. 14th edition. Tokyo: Kanehara & Co. Ltd.; 2010
194. Zhu Z, Sun X, Wang J, et al. Histopathology-based prognostic score is independent prognostic factor of gastric carcinoma. *BMC Cancer.* 2014;14:663.
195. Mandal PK, Chakrabarti S, Ray A, Chattopadhyay B, Das S. Mucin histochemistry of stomach in metaplasia and adenocarcinoma: An observation. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2013 Oct;34(4):229-33
196. Chen S, Cai MY, Chen YB, Li YF, Feng XY, Zhou ZW. Serosa-penetration in human T4aN0M0 gastric carcinoma correlates with worse prognosis after D2 gastrectomy. *Chin Med J (Engl).* 2012;125(6):1158-62.

197. Sun Z, Zhu GL, Lu C, Guo PT, Huang BJ, Li K, Xu Y, Wang ZN, Xu HM. A novel subclassification of pT2 gastric cancers according to the depth of muscularis propria invasion: superficial muscularis propria versus deep muscularis propria/subserosa. *Ann Surg*. 2009;249(5):768-75.
198. Ishigami S, Natsugoe S, Miyazono F, Hata Y, Uenosono Y, Sumikura S, Matsumoto M, Tokuda K, Nakajo A, Hokita S, Aikou T. Clinical merit of subdividing gastric cancer according to invasion of the muscularis propria. *Hepatogastroenterology*. 2004 ;51(57):869-71
199. Catalano V, Labianca R, Beretta GD, Gatta G, de Braud F, Van Cutsem E. Gastric cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2009 ;71(2):127-64.
200. Zhou AP, Li YS, Yang L, Song Y, Sun YK, Zhang W, Cui CX, Chi Y, Yuan XH, Lü N, Wang JW. Phase II clinical trial of docetaxel, platinum and S-1 for advanced gastric cancer. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2012 ;92(24):1677-80.
201. Kim HH, Han SU, Kim MC, et al. Effect of laparoscopic distal gastrectomy vs. open distal gastrectomy on long-term survival among patients with stage I gastric cancer. *JAMA Oncol* 2019;5: 506-13.
202. Rey JF, Lambert R; ESGE Quality Assurance Committee. ESGE recommendations for quality control in gastrointestinal endoscopy: guidelines for image documentation in upper and lower GI endoscopy. *Endoscopy*. 200;33(10):901-3.
203. Lambert R, Rey JF. Endoscopy and early neoplasia: better but not the best. *Endoscopy*. 2001;33(4):348-52
204. Wei F, Huang P, Li S, Chen J, Zhang Y, Hong Y, Wei S, Cosgrove D. Enhancement patterns of gastric carcinoma on contrast-enhanced ultrasonography: relationship with clinicopathological features. *PLoS One*. 2013 Sep 6;8(9):e73050.
205. Shan GD, Xu GQ, Li YM. Endoscopic ultrasonographic features of gastric linitis plastica in fifty-five Chinese patients. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2013 ;14(9):844-8.
206. Hallinan JT, Venkatesh SK. Gastric carcinoma: imaging diagnosis, staging and assessment of treatment response. *Cancer Imaging*. 2013 ;13:212-27.
207. Theory and practice of histological techniques. 5th edition. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, New York, Oxford, 2002.
208. Kim YJ, Kim SH, Kim JW, Lee JO, Kim JH, Bang SM, Lee JS, Lee KW. Gastric cancer with initial bone metastasis: a distinct group of diseases with poor prognosis. *Eur J Cancer*. 2014;50(16):2810-21.
209. Zu H, Wang H, Li C, Xue Y. Clinicopathologic characteristics and prognostic value of various histological types in advanced gastric cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(9):5692-700.
210. Potecă T, Potecă A, Sajin M, Comănescu M. Biological prognostic parameters in gastric carcinomas. *Chirurgia (Bucur)*. 2014;109(3):347-54.
211. Oprić M: Tumori gastrointestinalnog trakta. U Oprić M i sar: Specijalna onkologija. US Medical school (ed), Elit Medica, Beograd, 2004, pp 172-268.
212. Kunisaki C, Shimada H, Nomura M, Matsuda G, Otsuka Y, Ono H, et al. Distribution of lymph node metastasis in gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2006;53(69):468-72
213. Hu X, Cao L, Yu Y. Prognostic prediction in gastric cancer patients without serosal invasion: comparative study between UICC 7(th) edition and JCGS 13(th) edition N-classification systems. *Chin J Cancer Res*. 2014;26(5):596-601.
214. Carraway, L. Ramsauer VP., Haq, B. & Carothers Carraway CA. Cell signaling through membrane mucins. *Bioessays* 2003; 25(1), 66-71

215. Rachagani S, Torres MP, Moniaux N, Batra SK. Current status of mucins in the diagnosis and therapy of cancer. *Biofactors*. 2009 ;35(6):509-27
216. Barchi JJ Jr. Mucin-type glycopeptide structure in solution: past, present, and future. *Biopolymers*. 2013;99(10):713-23.
217. Jonckheere N, Van Seuningen I. The membrane-bound mucins: From cell signalling to transcriptional regulation and expression in epithelial cancers. *Biochimie*. 2010 ;92(1):1-11
218. Hollingsworth MA, Swanson BJ. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer* 2004; 4:45-60.
219. Ahmed AA . Role of Pathology and Immunohistochemistry in the new era of molecular therapy. *The Open Conference Proceedings Journal* 2010; 1: 164-167
220. De Vita F, Di Martino N, Fabozzi A, Laterza MM, Ventriglia J, Savastano B, Petrillo A, Gambardella V, Sforza V, Marano L, Auricchio A, Galizia G, Ciardiello F, Orditura M. Clinical management of advanced gastric cancer: the role of new molecular drugs. *World J Gastroenterol*. 2014 28;20(40):14537-58
221. Pinto-de-Sousa J, David L, Reis CA, Gomes R, Silva L, Pimenta A. Mucins MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6 expression in the evaluation of differentiation and clinico-biological behaviour of gastric carcinoma. *Virchows Arch*. 2002 ;440(3):304-10.
222. Shomori K, Sugamura K, Adachi K, Shiomi T, Nanba E, Ito H. Gastric adenocarcinoma with rhabdoid morphology. *Gastric Cancer*. 2011;14(3):290-4.
223. Fuyuhiko Y, Yashiro M, Noda S, Kashiwagi S, Matsuoka J, Doi Y, Kato Y, Kubo N, Ohira M, Hirakawa K. Clinical significance of vimentin-positive gastric cancer cells. *Anticancer Res*. 2010 Dec;30(12):5239-43.
224. Otsuki S, Inokuchi M, Enjoji M, Ishikawa T, Takagi Y, Kato K, Yamada H, Kojima K, Sugihara K. Vimentin expression is associated with decreased survival in gastric cancer. *Oncol Rep*. 2011 May;25(5):1235-42.
225. Dinis-Ribeiro M, da Costa-Pereira A, Lopes C, Barbosa J, Guilherme M, Moreira-Dias L, Lomba-Viana H, Silva R, Abreu N, Lomba-Viana R. Validity of serum pepsinogen I/II ratio for the diagnosis of gastric epithelial dysplasia and intestinal metaplasia during the follow-up of patients at risk for intestinal-type gastric adenocarcinoma. *Neoplasia*. 2004 Sep-Oct;6(5):449-56.
226. Tsai MM, Wang CS, Tsai CY, Chi HC, Tseng YH, Lin KH. Potential prognostic, diagnostic and therapeutic markers for human gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(38):13791-803
227. Louhimo J, Nordling S, Alfthan H, von Boguslawski K, Stenman UH, Haglund C. Specific staining of human chorionic gonadotropin beta in benign and malignant gastrointestinal tissues with monoclonal antibodies. *Histopathology*. 2001 ;38(5):418-24
228. Santiago Casiano M, Paulo Malavé LM, Fahme E, Maldonado Rivera SN, González O, Cáceres Perkins W, Hernán Martínez J. Unusual presentation of primary gastric choriocarcinoma in a 24-year-old female patient. *Bol Asoc Med P R*. 2011;103(2):77-9.
229. Satake N, Chikakiyo M, Yagi T, Suzuki Y, Hirose T. Gastric cancer with choriocarcinoma and yolk sac tumor components: case report. *Pathol Int*. 2011;61(3):156-60.
230. Karseladze AI, Kozlov NA. Ectopic hormone production of beta-subunit of human chorionic gonadotropin by cells of signet ring cell carcinoma of the stomach. *Arkh Patol*. 2010 ;72(5):36-9.
231. Docea AO, Mitruț P, Cernea D, Georgescu CC, Olimid D, Mărgăritescu C, Dumitrescu D. Immunohistochemical expression of EGF, c-erbB-2 and EGFR in intestinal variant of gastric adenocarcinomas. *Rom J Morphol Embryol*. 2013;54(3):545-54.

232. Furukawa H, Iwanaga T, Koyama H, Taniguchi H. Effect of sex hormones on the experimental induction of cancer in rat stomach - a preliminary study. *Digestion*. 1982;23(3):151-5.
233. Sipponen P, Correa P. Delayed rise in incidence of gastric cancer in females results in unique sex ratio (M/F) pattern: etiologic hypothesis. *Gastric Cancer*. 2002;5(4):213-9.
234. Kumtepe Y, Borekci B, Karaca M, Salman S, Alp HH, Suleyman H. Effect of acute and chronic administration of progesterone, estrogen, FSH and LH on oxidant and antioxidant parameters in rat gastric tissue. *Chem Biol Interact*. 2009;182(1):1-6.
235. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
236. Zhao L, Shen ZX, Luo HS, Shen L. Possible involvement of leptin and leptin receptor in developing gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2005; 11(48):7666-70.
237. Schneider R, Bomstein SR, Chrousos GP, Boxberger S, Ehninger G, Breidert M.: Leptin mediates a proliferative response in human gastric mucosa cells with functional receptor. *Horm Metab Res* 2001; 33: 1-6
238. Milosevic V, Vukmirovic F, Krstić M, Zindovic M, Stojanovic D, Jancic S: Involvement of leptin receptors expression in proliferation and neoangiogenesis in colorectal carcinoma. *J BUON*, 2015; 20(1):100-108
239. Ratke J, Entschladen F, Niggemann B, Zänker KS, Lang K. Leptin stimulates the migration of colon carcinoma cells by multiple signaling pathways. *Endocr Relat Cancer*. 2010; 17(1):179-89.
240. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2018 (5th edition). *Gastric Cancer*. 2021 Jan;24(1):1-21. Epub 2020 Feb 14.
241. Pimentel-Nunes P, Dinis-Ribeiro M, Ponchon T et al. Endoscopic submucosal dissection: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) guideline. *Endoscopy* 2015
242. Smyth EC, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D; ESMO Guidelines Committee. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2016 Sep.
243. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma: review and considerations for future directions. *Ann Surg*. 2005;241(1):27-39.
244. Kang SH, Kim HH. Laparoscopic surgery for gastric cancer: Current status and future direction. *Chin J Cancer Res*. 2021;33(2):133-141. doi:10.21147
245. Bracale U, Merola G, Pignata G, Andreuccetti J, Dolce P, Boni L, Cassinotti E, Olmi S, Uccelli M, Gualtierotti M, Ferrari G, De Martini P, Bjelović M, Gunjić D, Silvestri V, Pontecorvi E, Peltrini R, Pirozzi F, Cuccurullo D, Sciuto A, Corcione F. Laparoscopic gastrectomy for stage II and III advanced gastric cancer: long term follow up data from a Western multicenter retrospective study. *Surg Endosc*. 2021 Apr 20.
246. Han M, Lv S, Zhang Y, Yi R, Huang B, Fu H, Bian R, Li X. The prognosis and clinicopathology of CXCR4 in gastric cancer patients: a meta-analysis. *Tumour Biol*. 2014;35(5):4589-97.
247. Otsuji E, Kuriu Y, Ichikawa D, Okamoto K, Ochiai T, Hagiwara A, Yamagishi H. Time to death and pattern of death in recurrence following curative resection of gastric carcinoma: analysis based on depth of invasion. *World J Surg*. 2004 ;28(9):866-9.
248. Deans C, Yeo MS, Soe MY, Shabbir A, Ti TK, So JB: Cancer of the gastric cardia is rising in incidence in an Asian population and is associated with adverse outcome. *World J Surg* 2011, 35(3):617–624.

249. Zheng L, Wu C, Xi P, Zhu M, Zhang L, Chen S, Li X, Gu J, Zheng Y. The survival and the long-term trends of patients with gastric cancer in Shanghai, China. *BMC Cancer*. 2014 ;14:300-13
250. Deng J, Zhang R, Pan Y, Ding X, Cai M, Liu Y, Liu H, Bao T, Jiao X, Hao X, Liang H. Tumor size as a recommendable variable for accuracy of the prognostic prediction of gastric cancer: a retrospective analysis of 1,521 patients. *Ann Surg Oncol*. 2015;22(2):565-72.
251. Xu M, Huang CM, Zheng CH, Li P, Xie JW, Wang JB, Lin JX, Lu J. Does tumor size improve the accuracy of prognostic predictions in node-negative gastric cancer (pT1-4aN0M0 stage)? *PLoS One*. 2014 ;9(7):e101061.
252. Becker K, Langer R, Reim D, Novotny A, Meyer zum Buschenfelde C, Engel J, Friess H, Hofler H: Significance of histopathological tumor regression after neoadjuvant chemotherapy in gastric adenocarcinomas: a summary of 480 cases. *Ann Surg* 2011,253:934–939
253. Liu L, Wang ZW, Ji J, Zhang JN, Yan M, Zhang J, Liu BY, Zhu ZG, Yu YY. A cohort study and meta-analysis between histopathological classification and prognosis of gastric carcinoma. *Anticancer Agents Med Chem*. 2013 ;13(2):227-34.
254. Seker M, Aksoy S, Ozdemir NY, Uncu D, Zengin N. Clinicopathologic features of gastric cancer in young patients. *Saudi J Gastroenterol*. 2013;19(6):258-61.
255. Li Y, Du P, Zhou Y, Cheng Q, Chen D, Wang D, Sun T, Zhou J, Patel R. Lymph node micrometastases is a poor prognostic factor for patients in pN0 gastric cancer: a meta-analysis of observational studies. *J Surg Res*. 2014 ;191(2):413-22.
256. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma: review and considerations for future directions. *Ann Surg*. 2005;241(1):27-39.
257. Kunisaki C, Shimada H, Nomura M, Matsuda G, Otsuka Y, Ono H, et al. Distribution of lymph node metastasis in gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2006;53(69):468-72.
258. Hartgrink HH, van de Velde CJ, Putter H, Bonenkamp JJ, Klein Kranenbarg E, Songun I, et al. Extended lymph node dissection for gastric cancer: who may benefit? Final results of the randomized Dutch gastric cancer group trial. *J Clin Oncol*. 2004;22(11):2069-77.
259. Di Martino N, Izzo G, Cosenza A, Vincenzo L, Monaco L, Torelli F, et al. Total gastrectomy for gastric cancer: can the type of lymphadenectomy condition the long-term results?. *Suppl Tumori*. 2005;4(3):S84-5.
260. He WL, Li YH, Yang DJ, Song W, Chen XL, Liu FK, Wang Z, Li W, Chen W, Chen CY, He YL, Zhan WH. Combined evaluation of centromere protein H and Ki-67 as prognostic biomarker for patients with gastric carcinoma. *Eur J Surg Oncol*. 2013;39(2):141-9.
261. Gonçalves AR, Carneiro AJ, Martins I, de Faria PA, Ferreira MA, de Mello EL, Fogaça HS, Elia CC, de Souza HS. Prognostic significance of p53 protein expression in early gastric cancer. *Pathol Oncol Res*. 2011;17(2):349-55.
262. Rakhshani N, Kalantari E, Bakhti H, Sohrabi MR, Mehrazma M. Evaluation of HER-2/neu overexpression in gastric carcinoma using a tissue microarray. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(18):7597-602.
263. Larsson SC, Bergkvist L, Näslund I, Rutegård J, Wolk A. Vitamin A, retinol, and carotenoids and the risk of gastric cancer: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr*. 2007 ;85(2):497-503.
264. Woo HD, Park S, Oh K, Kim HJ, Shin HR, Moon HK, Kim J. Diet and cancer risk in the Korean population: a meta- analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(19):8509-19.

265. Pal J, Sanal MG, Gopal GJ. Vitamin-C as anti-Helicobacter pylori agent: More prophylactic than curative- Critical review. *Indian J Pharmacol.* 2011;43(6):624-7
266. Asaka M. A new approach for extermination of gastric cancer from Japan *Nihon Rinsho.* 2013;71(8):1327-30.
267. Kovačević Z: Neoplastični program ćelije. U Kovačević Z (ed): *Maligne neoplazme.* Srpska akademija nauka i umetnosti, ogranak u Novom Sadu, Novi Sad 2006, str. 176-186
268. NIH Biomarkers Definition Working Group (2001): Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*;69:89–95
269. Sumner DR, Ross R, Purdue E. Are there biological markers for wear or corrosion? A systematic review. *Clin Orthop Relat Res.* 2014;472(12):3728-39
270. Romanus D, Cardarella S, Cutler D, Landrum MB, Lindeman NI, Gazelle GS. Cost-Effectiveness of Multiplexed Predictive Biomarker Screening in Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2015 Jan 14.
271. Rubin CI, Atweh GF : The role of stathmin in the regulation of the cell cycle. *J Cell Biochem* 2004; 93: 242–250.
272. Mistry SJ, Atweh GF: Therapeutic interactions between stathmin inhibition and chemotherapeutic agents in prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 2006, 5: 3248–3257
273. Gavet O, Ozon S, Manceau V, Lawler S, Curmi P, Sobel A (1998) The stathmin phosphoprotein family: intracellular localization and effects on the microtubule network. *J Cell Sci* 111(Part 22): 3333–3346
274. Jeon TY, Han ME, Lee YW, Lee YS, Kim GH, et al.: Overexpression of stathmin1 in the diffuse type of gastric cancer and its roles in proliferation and migration of gastric cancer cells. *Br J Cancer* 2010,102: 710–718.
275. Alli E, Yang JM, Hait WN : Silencing of stathmin induces tumor suppressor function in breast cancer cell lines harboring mutant p53. *Oncogene*, 2007,26: 1003–1012.
276. Golouh R, Cufer T, Sadikov A, Nussdorfer P, Usher PA, et al.: The prognostic value of Stathmin-1, S100A2, and SYK proteins in ER-positive primary breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen monotherapy: an immunohistochemical study. *Breast Cancer Res Treat* 2008,110: 317–326.
277. Ghosh R, Gu G, Tillman E, Yuan J, Wang Y, et al. : Increased expression and differential phosphorylation of stathmin may promote prostate cancer progression. *Prostate* 2007, 67: 1038–1052.
278. Kim JY, Harvard C, You L, Xu Z, Kuchenbecker K, et al. : Stathmin is overexpressed in malignant mesothelioma. *Anticancer Res* 2007,27: 39–44.
279. Xi W, Rui W, Fang L, Ke D, Ping G, et al. (2009) Expression of stathmin/op18 as a significant prognostic factor for cervical carcinoma patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009, 135: 837–846.
280. Wang F, Wang LX, He W, Zhu LN, Zhao PR, et al. : Expression of stathmin in esophageal squamous cell carcinoma and its biological significance. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2010, 30: 1552–1557.
281. Giampietro C, Luzzati F, Gambarotta G, Giacobini P, Boda E, Fasolo A, Perroteau I (2005) Stathmin expression modulates migratory properties of GN-11 neurons in vitro. *Endocrinology* 146: 1825–1834
282. Jin K, Mao XO, Cottrell B, Schilling B, Xie L, Row RH, Sun Y, Peel A, Childs J, Gendeh G, Gibson BW, Greenberg DA (2004) Proteomic and immunochemical characterization of a role for stathmin in adult neurogenesis. *FASEB J* 18: 287–299

283. Ozon S, Guichet A, Gavet O, Roth S, Sobel A (2002) Drosophila stathmin: a microtubule-destabilizing factor involved in nervous system formation. *Mol Biol Cell* 13: 698–710
284. Xu JP, Hu JD, Li J, Liu TB, Lin MH. Expression and significance of stathmin1 in acute leukemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2013 ;21(5):1105-10.
285. Oprić M: Opšta onkologija. US Medical school (ed), Elit Medica, Beograd, 2004, pp 126-131.
286. Foltyn W, Zajęcki W, Marek B, Kajdaniuk D, Siemińska L, Zemczak A, Kos-Kudła B. The value of the Ki-67 proliferation marker as a prognostic factor in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Endokrynol Pol*. 2012;63(5):362-6.
287. Brown DC, Gatter KC. Ki67 protein: the immaculate deception? *Histopathology* 2002;40:2–11.
288. Preusser M, Heinzl H, Gelpi E, Hoftberger R, Fischer I, Pipp I, Milenkovic I, Wohrer A, Popovici F, Wolfsberger S, et al. Ki67 index in intracranial ependymoma: a promising histopathological candidate biomarker. *Histopathology*. 2008; 53(1):39–47
289. Bruno S, Gorczyca W, Darzynkiewicz Z. Effect of ionic strength in immunocytochemical detection of the proliferation associated nuclear antigens p120, PCNA, and the protein reacting with Ki-67 antibody. *Cytometry*. 1992;13(5):496-501.
290. Zambon AC. Use of the Ki67 promoter to label cell cycle entry in living cells. *Cytometry A*. 2010;77(6):564-70
291. MacCallum DE, Hall PA. The location of pKi67 in the outer dense fibrillary compartment of the nucleolus points to a role in ribosome biogenesis during the cell division cycle. *J Pathol*. 2000 Apr;190(5):537-44.
292. MacCallum DE, Hall PA.: The biochemical characterization of the DNA binding activity of pKi67. *J Pathol*. 2000 ;191(3):286-98.
293. Wang B, Wang X, Wang J, Xuan L, Wang Z, Wang X, Gao J, Zhang H. Expression of Ki67 and clinicopathological features in breast cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2014;36(4):273-5.
294. Bartova M, Ondrias F, Muy-Kheng T, Kastner M, Singer Ch, Pohlodek K. COX-2, p16 and Ki67 expression in DCIS, microinvasive and early invasive breast carcinoma with extensive intraductal component. *Bratisl Lek Listy*. 2014;115(7):445-51.
295. Tzanakis NE, Peros G, Karakitsos P, Giannopoulos GA, Efstathiou SP, Rallis G, Tsigris C, Kostakis A, Nikiteas NI. Prognostic significance of p53 and Ki67 proteins expression in Greek gastric cancer patients. *Acta Chir Belg*. 2009 ;109(5):606-11.
296. Kovačević Z: Biohemija i molekularna biologija. Medicinski fakultet (ed), Novi Sad, 2003
297. He L, Cao G, Huang M, Xue R, Hu X, Gong C. Expression pattern of immunoglobulin superfamily members in the silkworm, *Bombyx mori*. *Gene*. 2014 ;548(2):198-209
298. Wang Y, Yago T, Zhang N, Abdisalaam S, Alexandrakis G, Rodgers W, McEver RP. Cytoskeletal Regulation of CD44 Membrane Organization and Interactions with E-selectin. *J Biol Chem*. 2014 ;289(51):35159-71
299. Knowles M and Selby P: Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer. Oxford University Press, 2005
300. Yoon KJ, Danks MK. Cell adhesion molecules as targets for therapy of neuroblastoma. *Cancer Biol Ther*. 2009 ;8(4):306-11
301. Pećina-Slaus N. Tumor suppressor gene E-cadherin and its role in normal and malignant cells. *Cancer Cell Int*. 2003 ;3(1):17-27
302. Palacios J, Sarrió D, García-Macias MC, Bryant B, Sobel ME, Merino MJ. Frequent E-cadherin gene inactivation by loss of heterozygosity in pleomorphic lobular carcinoma of the breast. *Mod Pathol*. 2003;16(7):674-8.

303. Engstrøm MJ, Opdahl S, Vatten LJ, Haugen OA, Bofin AM. Invasive lobular breast cancer: the prognostic impact of histopathological grade, E-cadherin and molecular subtypes. *Histopathology*. 2015 ;66(3):409-19.
304. Bhagat R, Premalata CS, Shilpa V, Pallavi VR, Ramesh G, Vijay CR, Krishnamoorthy L. Altered expression of β -catenin, E-cadherin, and E-cadherin promoter methylation in epithelial ovarian carcinoma. *Tumour Biol*. 2013;34(4):2459-68.
305. Khorrami MH, Hadi M, Gharaati MR, Izadpanahi MH, Javid A, Zargham M. E-cadherin expression as a prognostic factor in transitional cell carcinoma of the bladder after transurethral resection. *Urol J*. 2012 ;9(3):581-5.
306. Wang M, Liu X, Jiang G, Chen H, Guo J, Weng X. Relationship between LSD1 expression and E-cadherin expression in prostate cancer. *Int Urol Nephrol*. 2015. [Epub ahead of print]
307. Yan B, Zhang W, Jiang LY, Qin WX, Wang X. Reduced E-Cadherin expression is a prognostic biomarker of non-small cell lung cancer: a meta-analysis based on 2395 subjects. *Int J Clin Exp Med*. 2014 ;7(11):4352-6
308. Jie D, Zhongmin Z, Guoqing L, Sheng L, Yi Z, Jing W, Liang Z. Positive expression of LSD1 and negative expression of E-cadherin correlate with metastasis and poor prognosis of colon cancer. *Dig Dis Sci*. 2013 ;58(6):1581-9.
309. Ayed-Guerfali DB, Hassairi B, Khabir A, Sellami-Boudawara T, Gargouri A, Mokdad-Gargouri R. Expression of APC, β -catenin and E-cadherin in Tunisian patients with gastric adenocarcinoma: clinical significance. *Tumour Biol*. 2014;35(3):1775-83
310. Ge MH, Ling ZQ, Tan Z, Chen C, Xu JJ, Yu JL. Expression and significance of E-cadherin in adenoid cystic carcinoma of salivary glands. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2012;92(2):106-9.
311. Guo Y, Yin J, Zha L, Wang Z. Clinicopathological significance of platelet-derived growth factor B, platelet-derived growth factor receptor- β , and E-cadherin expression in gastric carcinoma. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2013;17(2):150-5.
312. Stănculescu D, Mărgăritescu C, Stepan A, Mitruț AO. E-cadherin in gastric carcinomas related to histological prognostic parameters. *Rom J Morphol Embryol*. 2011;52(3 Suppl):1107-12.
313. Maehata Y, Hirahashi M, Aishima S, Kishimoto J, Hirohashi S, Yao T, Takashima H, Tsuneyoshi M, Oda Y. Significance of dysadherin and E-cadherin expression in differentiated-type gastric carcinoma with submucosal invasion. *Hum Pathol*. 2011;42(4):558-67.
314. Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM, vanTuinen P, Ledbetter DH, Barker DF, Nakamura Y, White R, Vogelstein B. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science*. 1989 ;244(4901):217-21.
315. Baugh EH, Ke H, Levine AJ, Bonneau RA, Chan CS. Why are there hotspot mutations in the TP53 gene in human cancers? *Cell Death Differ*. 2018 Jan;25(1):154-160.
316. Coleman S, Gibbs A, Butchart E, Mason MD, Jasani B, Tabi Z. SV40 large T antigen-specific human T cell memory responses. *J Med Virol*. 2008 Aug;80(8):1497-504.
317. Johnson JP, Kumar P, Koulis M, Patel M, Simin K. Crucial and novel cancer drivers in a mouse model of triple-negative breast cancer. *Cancer Genomics Proteomics*. 2014 ;11(3):115-26.
318. Dorszewska J, Oczkowska A, Suwalska M, Rozycka A, Florczak-Wyspianska J, Dezor M, Lianeri M, Jagodzinski PP, Kowalczyk MJ, Prendecki M, Kozubski W. Mutations in the exon 7 of Trp53 gene and the level of p53 protein in double transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol*. 2014;52(1):30-40.

319. Olivier M, Petitjean A, Marcel V, Pétré A, Mounawar M, Plymoth A, de Fromental CC, Hainaut P. Recent advances in p53 research: an interdisciplinary perspective. *Cancer Gene Ther.* 2009;16(1):1-12.
320. Busuttill RA, Zapparoli GV, Haupt S, Fennell C, Wong SQ, Pang JM, Takeno EA, Mitchell C, Di Costanzo N, Fox S, Haupt Y, Dobrovic A, Boussioutas A. Role of p53 in the progression of gastric cancer. *Oncotarget.* 2014 ;5(23):12016-26.
321. Amundson SA, Patterson A, Do KT, Fornace AJ., Jr A nucleotide excision repair master-switch: p53 regulated coordinate induction of global genomic repair genes. *Cancer biology & therapy.* 2002;1(2):145–149
322. Fujii T, Nakagawa S, Hanzawa M, Sueyoshi S, Fujita H, Shirouzu K, Yamana H. Immunohistological study of cell cycle-related factors, oncogene expression, and cell proliferation in adenocarcinoma developed in Barrett's esophagus. *Oncol Rep.* 2003 ;10(2):427-31.
323. Claudio PP, Zamparelli A, Garcia FU, Claudio L, Ammirati G, Farina A, Bovicelli A, Russo G, Giordano GG, McGinnis DE, Giordano A, Cardi G. Expression of cell-cycle-regulated proteins pRb2/p130, p107, p27(kip1), p53, mdm-2, and Ki-67 (MIB-1) in prostatic gland adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2002;8(6):1808-15.
324. Soussi T, Ishioka C, Claustres M, Bérout C. Locus-specific mutation databases: pitfalls and good practice based on the p53 experience. *Nat Rev Cancer.* 2006 ;6(1):83-90
325. Soussi T, Asselain B, Hamroun D, Kato S, Ishioka C, Claustres M, Bérout C. Meta-analysis of the p53 mutation database for mutant p53 biological activity reveals a methodologic bias in mutation detection. *Clin Cancer Res.* 2006 ;12(1):62-9.
326. Edlund K, Larsson O, Ameer A, Bunikis I, Gyllensten U, Leroy B, Sundström M, Micke P, Botling J, Soussi T. Data-driven unbiased curation of the TP53 tumor suppressor gene mutation database and validation by ultradeep sequencing of human tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 ;109(24):9551-6.
327. Xu HY, Xu WL, Wang LQ, Chen MB, Shen HL. Relationship between p53 status and response to chemotherapy in patients with gastric cancer: a meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9(4):e95371.
328. Wei K, Jiang L, Wei Y, Wang Y, Qian X, Dai Q, Guan Q. The prognostic significance of p53 expression in gastric cancer: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2015 Apr;141(4):735-48.
329. Kontos CK, Christodoulou MI, Scorilas A. Apoptosis-related BCL2-family members: Key players in chemotherapy. *Anticancer Agents Med Chem.* 2014;14(3):353-74
330. Siddiqui WA, Ahad A, Ahsan H. The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update. *Arch Toxicol.* 2015 Mar;89(3):289-317.
331. Rekha KR, Selvakumar GP. Gene expression regulation of Bcl2, Bax and cytochrome-C by geraniol on chronic MPTP/probenecid induced C57BL/6 mice model of Parkinson's disease. *Chem Biol Interact.* 2014;217:57-66.
332. Saeki N, Komatsuzaki R, Chiwaki F, Yanagihara K, Sasaki H. A GSDMB enhancer-driven HSV thymidine kinase-expressing vector for controlling occult peritoneal dissemination of gastric cancer cells. *BMC Cancer.* 2015 May 29;15:439.
333. Baretton GB, Diebold J, Christoforis G, Vogt M, Müller C, Dopfer K, Schneiderbanger K, Schmidt M, Löhrs U. Apoptosis and immunohistochemical bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. Aspects of carcinogenesis and prognostic significance. *Cancer.* 1996;77(2):255-64.

334. Sun N, Meng Q, Tian A. Expressions of the anti-apoptotic genes Bag-1 and Bcl-2 in colon cancer and their relationship. *Am J Surg.* 2010;200(3):341-5.
335. Gu YY, Chen MH, May BH, Liao XZ, Liu JH, Tao LT, Man-Yuen Sze D, Zhang AL, Mo SL. Matrine induces apoptosis in multiple colorectal cancer cell lines in vitro and inhibits tumour growth with minimum side effects in vivo via Bcl-2 and caspase-3. *Phytomedicine.* 2018 Dec 1
336. Ayed DB, Khabir A, Abid M, Bayrouiti MI, Gargouri A, Sellami-Boudawara T, Mokdad-Gargouri R. Clinicopathological and prognostic significance of p53, Ki-67, and Bcl-2 expression in Tunisian gastric adenocarcinomas. *Acta Histochem.* 2014 ;116(8):1244-50.
337. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem.* 1981;29(4):577-80.
338. Kanczuga-Koda L, Wincewicz A, Fudala A, Abrycki T, Famulski W, Baltaziak M, Sulkowski S, Koda M. E-cadherin and β -catenin adhesion proteins correlate positively with connexins in colorectal cancer. *Oncol Lett.* 2014;7(6):1863-1870.
339. Mouton PR: *Unbiased Stereology: A Concise Guide.* Baltimore John Hopkins University Press, 2011, first edition, 1-171
340. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016 Jan;25(1):16-27.
341. Kranjčević K : Karcinom želuca u praksi liječnika obiteljske medicine. *Acta Med Croatica,* 69 2015, 69: 333-338
342. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma: review and considerations for future directions. *Ann Surg.* 2005 Jan;241(1):27-39.
- 343.
344. Kang W, Tong JH, Chan AW, Lung RW, Chau SL, Wong QW, Wong N, Yu J, Cheng AS, To KF. Stathmin1 plays oncogenic role and is a target of microRNA-223 in gastric cancer. *PLoS One.* 2012;7(3):e33919
345. Abdel-Aziz A, Ahmed RA, Ibrahiem AT. Expression of pRb, Ki67 and HER 2/neu in gastric carcinomas: Relation to different histopathological grades and stages. *Ann Diagn Pathol.* 2017 Oct;30:1-7.
346. Min KW, Kim DH, Son BK, Kim DH, Kim EK, Seo J, Ahn SB, Jo YJ, Park YS, Ha J. A High Ki67/BCL2 Index Could Predict Lower Disease-Free and Overall Survival in Intestinal-Type Gastric Cancer. *Eur Surg Res.* 2017;58(3-4):158-168.
347. Carneiro P, Fernandes MS, Figueiredo J, Caldeira J, Carvalho J, Pinheiro H, Leite M, Melo S, Oliveira P, Simões-Correia J, Oliveira MJ, Carneiro F, Figueiredo C, Paredes J, , Oliveira C, Seruca R. E-cadherin dysfunction in gastric cancer--cellular consequences, clinical applications and open questions. *FEBS Lett.* 2012 Aug 31;586(18):2981-9.
348. Zhao Y, Jin X, Li N, Li J, Qian J. Expression of ALDH1, CXCR4 and E-cadherin in gastric carcinoma and their roles in lymphatic metastasis. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2016 Oct 20;36(10):1390-1395
349. Gao H, Lan X, Li S, Xue Y. Relationships of MMP-9, E-cadherin, and VEGF expression with clinicopathological features and response to chemosensitivity in gastric cancer. *Tumour Biol.* 2017 May;39(5):1010428317698368.
350. Zhou Y, Yandong Li, Zheng J, Liu K , Zhang H: Detecting of gastric cancer by Bcl-2 and Ki67. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(6): 7287–7290.

351. Mirmajidi SH, Ataee R, Barzegar A, Nikbakhsh N, Shaterpour M. Low Expression of the bcl2 Gene in Gastric Adenocarcinomas in Mazandaran Province of Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(14):6067-71.
352. .Liu X, Cai H, Huang H, Long Z, Shi Y, Wang Y. The prognostic significance of apoptosis-related biological markers in Chinese gastric cancer patients. *PLoS One.* 2011;6:e29670.
353. Korbakis D, Scorilas A. Quantitative expression analysis of the apoptosis-related genes BCL2, BAX and BCL2L12 in gastric adenocarcinoma cells following treatment with the anticancer drugs cisplatin, etoposide and taxol. *Tumour Biol.* 2012;33:865–875
354. Martin-Arruti M, Vaquero M, Díaz de Otazu R, Zabalza I, Ballesteros J, Roncador G, García-Orad A. Bcl-2 and BLIMP-1 expression predict worse prognosis in gastric diffuse large B cell lymphoma (DLCL) while other markers for nodal DLCL are not useful. *Histopathology.* 2012;60:785–792.
355. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005 Mar-Apr;55(2):74-108.
356. Yang L, Zheng R, Wang N, Yuan Y, Liu S, Li H, Zhang S, Zeng H, Chen W. Incidence and mortality of stomach cancer in China, 2014. *Chin J Cancer Res.* 2018 Jun;30(3):291-298.
357. Cordero-García E, Ramos-Esquivel A, Alpízar-Alpízar W. Predictors of overall survival after surgery in gastric cancer patients from a Latin-American country. *J Gastrointest Oncol.* 2018 Feb;9(1):64-72
358. Lazăr D, Tăban S, Sporea I, Dema A, Cornianu M, Lazăr E, Goldiș A, Vernic C. Ki-67 expression in gastric cancer. Results from a prospective study with long-term follow-up. *Rom J Morphol Embryol.* 2010;51(4):655-61.
359. Qiu MZ, Cai MY, Zhang DS, Wang ZQ, Wang DS, Li YH, Xu RH. Clinicopathological characteristics and prognostic analysis of Lauren classification in gastric adenocarcinoma in China. *J Transl Med.* 2013 Mar 6;11:58.
360. Li Y, Shi F, Wu C, Yang F. Differential expression of midkine and Ki67 in gastric carcinoma and the clinical implications. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2014 Oct;34(10):1534-6,
361. Li T, Chen J, Liu QL, Huo ZH, Wang ZW. Meta-analysis: E-cadherin immunorexpression as a potential prognosis biomarker related to gastric cancer metastasis in Asian patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014;18(18):2693-703
362. Cheng H, Wang X, Li T, Chen L. Bcl-2 expression and patient survival in gastric cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Med Oncol.* 2015 Jan;32(1):389

Биографија

Др Миљан Зиндовић рођен је 23.06.1979. у Подгорици, гдје је завршио Основну школу и Гимназију. Медицински факултет је завршио у Крагујевцу 2007. године, а последњи, 12. семестар студија медицине завршио је на Медицинском факултету Универзитета Удине (Италија) на бази билатералне сарадње Медицинског факултета у Крагујевцу и факултета у Удинама.

Докторске академске студије др М. Зиндовић је уписао школске 2007/08, а усмени докторски испит на смјеру Онкологија положио је 05.10.2009. године. Обавезан љекарски стаж у трајању од једне године је обавио у Дому Здравља Подгорица и Клиничком центру Црне горе. Од октобра 2008. до марта 2012. године је радио као доктор у Заводу за хитну медицинску помоћ Црне Горе, у Подгорици.

Специјализацију из Опште хирургије за Клинички центар Црне Горе отпочео је маја 2012., а специјалистички испит положио је у јуну 2017. године. Од тада ради као специјалиста опште хирургије у Центру за дигестивну хирургију КЦЦГ. Октобра 2021. уписао је и другу специјализацију из области абдоминалне хирургије.

Члан је Удружења хирурга Црне Горе и Комисије за стручна питања Љекарске коморе Црне Горе. Усавршавања из области трауме, ургентне хирургије и опште хирургије обавио је у Салцбургу у Аустрији. Напредне едукације минимално инвазивне хирургије јетре обавио је у Инсбруку, Аустрија, а из области хирургије панкреаса у Хајделбергу у Њемачкој. Лапароскопску хирургију колона, напредни курс, завршио је у Ријечи, Хрватска. Аутор је бројних научних и стручних радова. Течно говори и пише енглески и италијански језик.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, _____ Миљан Зиндовић _____, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

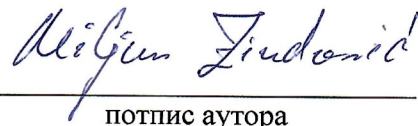
"Компаративна анализа имунохистохемијске експресије *Stathmina1*, *Ki67*, *E-cadherina*, *p53* и *Bcl 2* у интестиналном и дифузном карциному желуца "

која је одбрањена на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 2021.године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Миљан Зиндовић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

"Компаративна анализа имунохистохемијске експресије Stathmina1, Ki67, E-cadherina, p53 и Vcl 2 у интестиналном и дифузном карциному желуца "

која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу _____, 2021. _____ године,



потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>