

Molekularni mehanizmi, vpleteni v razvoj raka želodca

Molecular mechanisms of gastric cancer development

Petra Hudler

Medicinska fakulteta,
Inštitut za biokemijo,
Medicinski center za
molekularno biologijo,
Vrazov trg 2,
SI-1000 Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

asist. dr. Petra Hudler,
Medicinska fakulteta,
Inštitut za biokemijo,
Medicinski center za
molekularno biologijo,
Vrazov trg 2,
SI-1000 Ljubljana
Tel.: 01 543 7664
E-pošta: petra.hudler@
mf.uni-lj.si

Ključne besede:

aneuploidnost,
kromosomska
nestabilnost, metilacija,
mikrosatelitska
nestabilnost, onkogeni,
tumorje zaviralni geni

Key words:

aneuploidy,
chromosomal
instability, methylation,
microsatellite instability,
oncogenes, tumor
inhibitory genes

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012;
81: 54–60

Prispelo: 3. jun. 2011,
Sprejeto: 19. sept. 2011

Izvleček

Izhodišča: Žlezni rak želodca (adenokarcinom) zaradi neznanih bolezenskih znakov pogosto odkrijemo v poznih stadijih, zato je preživetje bolnikov zelo nizko. Danes vemo, da so tumorji želodca iz molekularnega vidika zelo heterogeni in da se razvijejo kot posledica večstopenjskega procesa različnih genomske, genske in epigenetske spremembe. Pomembno vlogo pri razvoju rakavih celic imajo gensko ozadje bolnikov, kopičenje sprememb v genih in dejavniki iz okolja. Več desetletij trajajoče raziskave so razkrile veliko mutiranih genov, ki bi lahko bili odgovorni za razvoj tovrstnega raka. Kljub temu pa tako poti njegovega nastanka kot tudi zaporedje dogodkov, ki spremenijo normalne celice v rakave, še vedno niso pojasnjeni. V pričujočem prispevku so predstavljeni molekularni mehanizmi, ki so najverjetneje vpleteni v razvoj raka želodca.

Abstract

Background: Owing to uncharacteristic symptoms, glandular stomach cancer (adenocarcinoma) is usually diagnosed at an advanced stage, when the prognosis is poor. Research showed that these tumours are very heterogeneous in terms of their molecular structure. Gastric cancer is believed to result from a multistep process encompassing different genomic, genetic and epigenetic changes. It is widely acknowledged that its development is the result of an interplay between genetic background of patients, accumulation of alterations in genes, and environmental risk factors. Studies, conducted over the last few decades, revealed numerous mutated genes, which could be associated with the risk of gastric cancer development. Unfortunately, the pathways and molecular sequences underlying the initiation and progression of normal cells into malignant ones have not been clearly explained yet. The purpose of this review is to present molecular mechanisms most likely implicated in gastric cancer development.

Uvod

Rak želodca je četrti najpogostejši rak na svetu in drugi najpogostejši vzrok smrti zaradi malignih bolezni, saj so bolezenski znaki njegove zgodnje oblike slabo prepoznavni. Po smrtnosti ga prekašajo edinole pljučni rak, rak dojke ter rak debelega črevesa in rektuma. V Sloveniji je rak želodca pri moških šesta in pri ženskah deveta najpogostejša vrsta raka. Po podatkih Registra raka Slovenije je v letu 2007 zbolelo 461 ljudi, 280 moških (28,14/100.000) in 181 žensk (17,67/100.000), umrlo pa skupaj 360 ljudi.¹ Tolikšna pojavnost nas uvršča v sredino evropskih držav, po podatkih zadnje analize EURO-CARE-4

(European Cancer Registry) pa lahko podobno trdimo tudi za preživetje slovenskih bolnikov z rakom želodca.

Kljub temu, da se pojavnost raka želodca v razvitem svetu zmanjšuje na račun velikih dosežkov na področju diagnosticiranja in zdravljenja, drugačnih prehranskih navad in odkrivanja ter zdravljenja okužbe z bakterijo *Helicobacter pylori*, relativno petletno preživetje pogosto ne preseže 20–30 %.^{2,3} Razlog za visoko smrtnost je odsotnost jasnih simptomov, zato bolezen pogosto odkrijemo v poznih stadijih, ko imata več kot dve tretjini bolnikov že razvito in razširjeno metastatsko bolezen in pri slabi polovici bolnikov kirurška odstranitev tumorjev ni

več mogoča. Presejanje v populacijah, kjer bolezen ni dedna, ni smiselno, kar velja tudi za preventivne endoskopske preglede, ki so smiselni le pri skupinah z visokim tveganjem za razvoj adenokarcinoma, kot so bolniki z že ugotovljenimi predrakavimi spremembami na sluznici želodca.

Molekularni mehanizmi karcinogeneze raka želodca

Molekularne mehanizme nastanka raka želodca zaenkrat slabo razumemo. Gre za zapletene procese, v katere so vpleteni genski dejavniki, genetsko ozadje bolnikov in dejavniki iz okolja. Več kot dve desetletji trajajoče raziskave so pokazale, da so za razvoj adenokarcinoma želodca odgovorne številne genomske, genetske in epigenetske spremembe, ki okvarijo delovanje onkogenov, tumorje zaviralnih genov, regulatorjev celičnega cikla, molekul celičnega povezovanja, genov, odgovornih za popraviljanje DNA, in genov, ki zapisujejo telomerazno aktivnost.⁴ Kljub temu pa genov, ki bi služili kot bio-označevalci, in zaporedje genskih mehanizmov, ki vodijo do nastanka malignih želodčnih celic, še ne poznamo.

Onkogeni in tumorje zaviralni geni

Onkogeni so normalni celični geni, ki nosijo zapis za proteine, ki so udeleženi pri razmnoževanju, rasti, preživetju in diferenciaciji celic ali pri preprečevanju celične smrti; za njihovo nenormalno delovanje – aktivacijo je potrebna sprememba v enem alelu. Tumorje zaviralni geni so geni, ki nosijo zapis za proteine, ki zavirajo celično razmnoževanje in rast ter pospešujejo celično smrt; za izgubo njihove aktivnosti je potrebna inaktivacija obeh alelov. Po odkritju prvega proto-onkogenega *src* približno leta 1970 in tumorje zaviralnega gena *RB1* se je veliko raziskav usmerilo v odkrivanje teh genov in preučevanje njihovih mutacij, ki bi lahko bile odgovorne za razvoj raka. Pri bolnikih z rakom želodca so odkrili različne mutacije v številnih onkogenih (*EGFR*, *FGFR2*, *HER2*, *HRAS*, *MET*, *VEGF*...) in tumorje zaviral-

nih genih (*APC*, *CDH1*, *DCC*, *FHIT*, *NME1* (*nm23*), *MCC*, *PTEN*, *RB1*, *TP53*...), vendar se je izkazalo, da splošnih vzorcev mutacij v enem genu ali pri kombinaciji večih genov, ki bi bili uporabni kot bio-označevalci za presejanje in diagnostiko, ni bilo mogoče določiti.⁵⁻⁷ Izkazalo se je tudi, da je pot nastanka raka želodca bolj zapletena in da bolezen ni mogoče opredeliti le s spremembami v onkogenih in tumorje zaviralnih genih. Pri večini bolnikov namreč odkrijemo popolnoma drugačne vzorce sprememb, ki prizadenejo več vrst genov, ne le tumorje zaviralne gene in onkogene, temveč tudi gene, ki sodelujejo pri popraviljanju DNA, gene za metaloproteinaze, citokine, jedrne dejavnike, molekule celičnega povezovanja in druge gene celičnega uravnavanja.^{5,8} Težava je tudi v tem, da pri bolnikih s sporadičnimi oblikami adenokarcinomov okvarjene onkogene in tumorje zaviralne gene pogosto odkrijemo le v tumorskih tkivih, kar pomeni, da se je bolezen že razvila, medtem ko v drugih telesnih celicah teh sprememb običajno ni. Poleg tega so raziskave pokazale, da je verjetnost, da bi prišlo do enakih ali podobnih patogenih sprememb v večih določenih genih pri vseh bolnikih zelo majhna in da je nastanek malignih celic pri večini sporadičnih adenokarcinomov posledica različnih mehanizmov, ki so individualni in odvisni od genetskega ozadja bolnikov in dejavnikov iz okolja.^{9,10} Na podlagi teh dejstev odkrivanje mutacij v onkogenih in tumorje zaviralnih genih v najprimernejših diagnostičnih telesnih celicah (npr. kri) ni mogoče, zato tudi ni primerno za presejalne teste in zgodnje odkrivanje bolezni.

Pri več kot polovici slovenskih bolnikov z napredovalim rakom želodca (56,4 %) so raziskovalci odkrili pomnoževanje onkogenega *MET*, od tega je bilo izražanje tega onkogenega pri 10 % bolnikov kar 5-krat višje od pričakovanega, kar je v skladu z drugimi študijami.^{11,12} Določanje pomnoževanja *MET* bi lahko uporabili kot diagnostični bio-označevalec, saj so na celičnih linijah dokazali, da so celice, v katerih je izražanje tega onkogenega povišano, zelo občutljive za specifičen inhibitor, ki se veže na produkt gena *MET*.¹² Nekateri od teh inhibitorjev so že vključeni v klinične raziskave novih zdra-

vil.¹³ S preprosto metodo PCR v realnem času bi tako lahko izbrali bolnike, primerne za zdravljenje s tem zdravilom.

Mutatorski fenotip

Mutatorski fenotip je posledica patogene procesa, ki so ga najprej odkrili pri razvoju raka debelega črevesa in je posledica inaktivacije genov, ki sodelujejo pri popravljanju napak pri podvojevanju DNA (*angl.* mismatch repair, MMR).¹⁴ Geni MMR delujejo kot tumorje zaviralni geni. To pomeni, da morata biti oba alela inaktivirana za izgubo njihove aktivnosti.¹⁵ Posledica okvarjenih genov MMR je mikrosatelitska nestabilnost (*angl.* microsatellite instability, MSI), ki se kaže kot kopičenje insercij ali delecij v predelih kratkih ponavljajočih se zaporedij DNA (mikrosatelitska zaporedja), kar lahko povzroči premik bralnega okvirja genov in mutacije v njihovih kodirajočih predelih.¹⁶ Za inaktivacijo genov MMR sta odgovorna dva procesa: (1) mutacije, ki inaktivirajo en ali oba alela genov MMR, in (2) metilacija otočkov CpG v promotorjih, ki nadzorujejo prepisovanje genov MMR (epigenetska inaktivacija).^{5,17}

Raziskave so pokazale, da je mutatorski fenotip odgovoren za manjši delež vseh adenokarcinomov želodca.¹⁰ MSI kot posledico mutacij v genih MMR so odkrili le pri 15–35 % bolnikov s sporadičnim rakom želodca. Pri slovenskih bolnikih se visoka MSI pojavlja v 12 % in nizka MSI v 18 %.¹⁸ V raziskavi, ki je zajela večje število bolnikov, pa smo odkrili MSI v predelu *TP53* pri približno 10 % bolnikov.¹⁹ Zanimivo je, da je bila MSI značilno povezana z začetnimi stadiji bolezni po klasifikaciji TNM, zato bi določanje MSI v vzorcih, odvzetih pri gastroskopiji, lahko uporabili pri zgodnjem odkrivanju raka želodca. Študije so tudi pokazale, da imajo bolniki z MSI boljše 5-letno preživetje kot bolniki, pri katerih MSI niso odkrili.¹⁸

Metilacijski fenotip

Metilacija otočkov CpG v promotorjih genov je pogost pojav pri epitelih karcinomih, ki onemogoči izražanje genov in tako okvari različne regulatorne in signalne poti

v celicah.⁵ Pri bolnikih z rakom želodca so odkrili, da so promotorski predeli tumorje zaviralnih genov *APC*, *CACNA2D3*, *CDH1*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *MHL1*, *MGMT*, *PTEN*, *RUNX3*, *TFPI2* in drugih genov, kot so *IGFBP3*, *PCDH10*, *RIZ1* in *SOX2*, pogosto hipermetilirani, medtem ko se v preostalih delih genoma metilacijski vzorec poruši, tako da pride do hipometilacije, zaradi česar se lahko aktivirajo onkogeni in encim telomeraza.^{5,20} Raziskave tega mehanizma karcinogeneze so v teku in potrebnih bo še veliko študij, preden bo dokončno pojasnjena vloga metilacije pri razvoju raka želodca. Spodbudno pa je dejstvo, da se hipermetilacija verjetno pojavi v začetnih fazah razvoja raka in da je možno določanje stopnje hipermetilacije promotorjev nekaterih genov v krvi.²⁰ Za epitelne vrste raka je namreč značilno, da se tumorske celice lahko odlučijo in prehajajo v kri, kjer povečini kmalu propadejo.²¹ Kljub temu je teh celic dovolj, da lahko z občutljivo, vendar preprosto metodo, kot je kvantitativna metilacijska verižna reakcija s polimerazo (*angl.* methylation specific polymerase chain reaction, MSP), odkrijemo hipermetilacijo genov. Metoda določanja metilacije genov *p16*, *RUNX3*, *RARB* in *CDH1* je dovolj specifična, da bi jo pri bolnikih, pri katerih je ta mehanizem odgovoren za nastanek raka želodca, lahko uporabili kot bio-označevalec za odkrivanje ponovitve bolezni in uspešnosti odstranitve tumorja.^{22–24} Ugotovili so tudi, da je stopnja metiliranosti promotorja gena *RUNX3* v soglasju s histološkimi kazalci tumorja, vraščanjem v žilje in vdorom celic v limfo, obenem pa je bilo njeno določanje bolj občutljivo kot določanje karcinoembrionalnega antigena (CEA).²⁴

Kromosomska nestabilnost (*angl.* chromosomal instability, CIN)

O celotni kromosomski nestabilnosti govorimo pri pomnožitvi ali izgubi celih kromosomov, kar se odraža v spremenjenem številu kromosomske garniture v celicah po končani delitvi (poliploidije, aneuploidije).²⁵ Spremembe v zgradbi enega ali več kromo-

somov pa imenujemo strukturna kromosomska nestabilnost. V to skupino uvrščamo: (1) izgubo heterozigotnosti (*angl.* loss of heterozygosity, LOH), ki jo lahko določamo s preprosto metodo PCR in ločevanjem produktov s kapilarno elektroforezo; (2) pomnožitve delov kromosomov in (3) translokacije delov kromosomov, ki jih lahko odkrijemo z analizo strukturnih genomskih variabilnosti (*angl.* copy number variation, CNV) in s primerjalno genomsko hibridizacijo (*angl.* comparative genomic hybridization, CGH).²⁶ CIN-fenotip rakavih celic so odkrili v začetnih stopnjah karcinogeneze malignih bolezni različnega tkivnega izvora, kar kaže na ključno vlogo kromosomske nestabilnosti v začetnem procesu nastanka raka.²⁷ CIN so prepoznali pri več kot 84 % tumorjev želodca, izraža pa se v različnih strukturnih aberacijah kromosomov.^{28,29} Citogenetske študije (določanje kariotipov, citometrija, določanje LOH, fluorescentna hibridizacija *in situ* (FISH) in novejši analizi CNV in CGH) poročajo o teh spremembah kromosomov pri raku želodca, ki bi lahko služile pri opredeljevanju stanja tumorjev in bi lahko bile uporabne pri napovedovanju poteka bolezni.^{30,31} V študiji, ki so jo naredili Birkbak in sodelavci, so odkrili, da imajo bolniki z rakom želodca, rakom dojk in rakom jajčnikov, s tumorji, ki kažejo zmerno CIN, slabše preživetje kot bolniki, ki imajo tumorje z visoko CIN.³² Pokazalo se je tudi, da je CIN zgodnji pojav v razvoju tumorjev in da z napredovanjem bolezni narašča.³⁰ Strukturne genomске variabilnosti (*angl.* copy number variation, CNV) so najpogostejše opazili pri intestinalnih in mešanih tipih tumorjev raka želodca.³³ Zanimivo je tudi dejstvo, da so kromosomske aberacije v predelih 11q23 in 19p13 pogostejše pri mlajših bolnikih, kar morda kaže na različne mehanizme karcinogeneze.³⁴

Študije izgube heterozigotnosti (LOH) so razkrile številne kromosomske predele, v katerih pogosto pride do delecij različno dolgih odsekov, in omogočile odkritje novih tumorjev zaviralnih genov.^{7,10,35} Raziskave so pokazale, da je visoka stopnja LOH pogostejša pri intestinalnih in mešanih tipih adenokarcinomov, medtem ko je nizka stopnja LOH bolj značilna za difuzni tip raka

želodca.³⁶ Pri slovenskih bolnikih z rakom želodca so Gazvoda in sodelavci odkrili, da je LOH najpogostejši v predelu, kjer se nahaja gen *APC* (36 % bolnikov), temu pa sledi LOH na predelih *TP53-1* (33 %), *NME1* (33 %), *TP53-2* (24 %) in *RB* (24 %).¹⁸ LOH v predelu *TP53-1* se je izkazal kot povezan z intestinalnim tipom raka želodca.¹⁸

Drug pomemben napovedni dejavnik je aneuploidija, ki nastane s pomnožitvijo ali izgubo celotnih kromosomov. Pri bolnikih z rakom želodca so aneuploidijo odkrili že pri predrakavih spremembah, kot sta intestinalna metaplazija in displazija.³⁷

Mehanizme, ki vodijo do nastanka LOH, CNV in aneuploidije, zaenkrat poznamo slabo. Vse več dejstev pa govori v prid temu, da je CIN verjetno zgodnji dogodek v patogenezi epitelnih vrst raka in da je odgovorna za inaktiviranje tumorjev zaviralnih genov, aktiviranje onkogenov in spremembe v drugih genih, ki sodelujejo pri nastanku malignih celic. Predlaganih je bilo veliko poti – aktivacija telomeraz, okvarjeni popravljalni mehanizmi, ki popravljajo napake v DNA, in mutacije v regulatornih molekulah celičnega cikla – vendar novejša raziskava kažejo, da je najbolj verjetno, da so za nastanek CIN odgovorne spremembe v mitotskih genih, predvsem v genih, ki nadzorujejo ločevanje kromatid med mitozo.^{28,38-40} Možno je tudi, da k razvoju CIN prispevajo tudi zunanji dejavniki, na primer karcinogeni, kot so tobak, nitrati, nitriti in okužba z bakterijo *H. pylori*.^{41,42} Študije so pokazale, da določene mutacije in polimorfizmi v genih, ki so vpleteni v ločevanje kromatid, lahko povzročijo povečano verjetnost za razvoj določenih tipov tumorjev.^{43,44} Grabsch in sodelavci so odkrili, da je izražanje gena *BUB1B*, ki je vpleten v ločevanje kromatid, statistično značilno povišano pri bolnikih z difuznim tipom adenokarcinoma želodca.²⁸

V zadnjih letih se vse več raziskav usmerja v preučevanje polimorfizmov v mitotskih genih. Iskanje mutacij v tem primeru ne bi imelo smisla, saj patogene mutacije v omenjenih genih večinoma povzročijo smrt zarodka že v zgodnjih fazah embriogeneze.³⁸ Edini znani bolezni, katerih vzrok so bialelne mutacije v genu *BUB1B* in sta tudi zelo redki, sta sindrom mozaične aneuploidije

(*angl.* mosaic variegated aneuploidy syndrome, MVA) in sindrom prezgodnjega ločevanja kromatid. Za obe bolezni so značilni simptomi zaostalost v rasti, mikrocefalija in razvoj raka v zgodnjem otroštvu.^{38,45} V prid novi hipotezi o vlogi polimorfizmov pri razvoju CIN govori tudi dejstvo, da se večina sporadičnih epitelnih vrst raka razvije pri starejših, medtem ko mutacije v onkogenih in tumorje zaviralnih genih sprožijo razvoj bolezni v zgodnejšem življenjskem obdobju.^{46,47} Pri preučevanju slovenskih bolnikov z rakom želodca smo odkrili, da so polimorfizem rs151658 v genu TTK ter polimorfizma rs1031963 in rs1801376 v genu BUB1B statistično značilno povezani s histopatološkimi kazalniki, kot so diferenciacija tumorjev ter invazivnost in tip tumorja.⁴⁸

Raziskave o vplivu polimorfizmov na razvoj raka so izredno zahtevne, saj so potrebne študije na velikem številu bolnikov, da bi lahko odkrili njihov vpliv na razvoj bolezni in preučili vse možne povezave med polimorfizmi v različnih genih.

Zaključek

Rak želodca je za zdravstvo hudo breme, saj bolezen zaradi težavnega diagnosticiranja in neznačilnih bolezenskih znakov pogosto odkrijemo v napredovali fazi. Preživetje bolnikov je tako nizko. Nova spoznanja o patogenezi adenokarcinomov želodca so pokazala, da so tovrstni tumorji heterogeni in da na njihov razvoj pomembno vpliva poleg karcinogenov in zunanjih dejavnikov tudi genetsko ozadje posameznikov. Raziskave potrjujejo, da se CIN in MSI običajno pojavita zgodaj v razvoju malignih celic (intestinalna metaplazija, displazija ter stadija I in II po klasifikaciji TNM), zato bi omejena kazalca lahko bila pomemben diagnostični dejavnik pri prepoznavanju zgodnjih oblik raka želodca in napovedni dejavnik za preživetje, saj imajo bolniki z MSI boljše preživetje kot bolniki s CIN. Spremembe v mitotskih genih, kot sta *BUB1B* in *TTK*, ki so odgovorne za razvoj CIN, bi zaradi preprostega določanja v krvi lahko s pridom uporabili kot presejalna označevalca, vendar zaradi pomanjkanja raziskav na večjem številu bolnikov to še ni dovolj zanesljivo. Iz tega

razloga je tudi določanje metilacije v promotorjih genov *p16*, *RUNX3*, *RARB* in *CDH1* še v poskusnih fazah. Odkrivanje sprememb v onkogenih in tumorje zaviralnih genih bi bilo smiselno le v tkivih, odvzetih med odstranitvijo želodca, saj mutacij v teh genih v netumorskih tkivih ni. Poleg tega tudi še ne vemo, v katerih stadijih razvoja bolezni se pojavijo spremembe v teh genih. Pri bolnikih s CIN in MSI je namreč zelo verjetno, da se mutacije v onkogenih in tumorje zaviralnih genih pojavijo že v zgodnjih stadijih. Odkrivanje sprememb v onkogenih pa bi po drugi strani lahko olajšalo izbiro načina zdravljenja. Izmed mnogih novih bioloških zdravil, ki so v kliničnih fazah preiskovanja, se kažejo kot zelo obetavni zaviralci onkogene *MET*, katerega izražanje je pogosto povišano pri bolnikih z rakom želodca.

Dodatno težavo predstavlja dejstvo, ki ga potrjujejo številne raziskave, da se opisani mehanizmi pri posameznih bolnikih prepletajo in da za nastanek malignih želodčnih celic ni nujno odgovoren le eden od zgoraj omenjenih mehanizmov. Trenutno je zgodnje odkrivanje bolezni s sodobnimi molekularnimi metodami še daleč, kaže pa, da bo za uspešno prepoznavanje bolezni in napovedovanje njenega poteka potrebno hkrati pregledovati večje število genov. Za to so najprimernejše novejši molekularno-genetske metode, s katerimi lahko hkrati pregledamo večji nabor genov, kot so PCR v realnem času, določanje nukleotidnega zaporedja z metodami druge generacije, CNV in CGH.

Literatura

1. Rak v Sloveniji 2007. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2010.
2. Smith MG, Hold GL, Tahara E, El-Omar EM. Cellular and molecular aspects of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2979–90.
3. Omejc M, Repše S, eds. Kirurška delavnica in simpozij Kirurgija želodca–standardi in novosti Ljubljana: Klinični oddelek za abdominalno kirurgijo, Kirurška klinika, Klinični center; 2005.
4. Tahara E. Abnormal growth factor/cytokine network in gastric cancer. *Cancer Microenviron* 2008; 1: 85–91.
5. Nobili S, Bruno L, Landini I, Napoli C, Bechi P, Tonelli F, et al. Genomic and genetic alterations influence the progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 290–9.
6. Tahara E. Genetic pathways of two types of gastric cancer. *IARC Sci Publ* 2004; (157): 327–49.
7. Tamura G. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 192–8.
8. Yokozaki H, Yasui W, Tahara E. Genetic and epigenetic changes in stomach cancer. *Int Rev Cytol* 2001; 204: 49–59.
9. Milne AN, Carneiro F, O'Morain C, Offerhaus GJ. Nature meets nurture: molecular genetics of gastric cancer. *Hum Genet* 2009; 126: 615–28.
10. Panani AD. Cytogenetic and molecular aspects of gastric cancer: clinical implications. *Cancer Lett* 2008; 266: 99–115.
11. Rajcevic U, Hudler P, Mijovski G, Gorjanc G, Hoelzl G, Repše S, et al. Assessment of differential expression of oncogenes in adenocarcinoma of stomach with fluorescent labeling and simultaneous amplification of gene transcripts. *Radiol Oncol* 2007; 41: 174–82.
12. Smolen GA, Sordella R, Muir B, Mohapatra G, Barmettler A, Archibald H, et al. Amplification of MET may identify a subset of cancers with extreme sensitivity to the selective tyrosine kinase inhibitor PHA-665752. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2316–21.
13. Eder JP, Vande Woude GF, Boerner SA, LoRusso PM. Novel therapeutic inhibitors of the c-Met signaling pathway in cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 2207–14.
14. Ravnik-Glavac M. Molekularnogenetski pristop za preseganje dednega nepolipoznega kolorektalnega karcinoma. *Zdrav Vestn* 2005; 74: 443–8.
15. Freiberg EC. DNA damage and repair. *Nature* 2003; 421: 436–40.
16. Hamilton JP, Meltzer SJ. A review of the genomics of gastric cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 416–25.
17. Oue N, Mitani Y, Motoshita J, Matsumura S, Yoshida K, Kuniyasu H, et al. Accumulation of DNA methylation is associated with tumor stage in gastric cancer. *Cancer* 2006; 106: 1250–9.
18. Gazvoda B, Juvan R, Zupanic-Pajnic I, Repše S, Ferlan-Marolt K, Balazic J, et al. Genetic changes in Slovenian patients with gastric adenocarcinoma evaluated in terms of microsatellite DNA. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 1082–9.
19. Juvan R, Hudler P, Gazvoda B, Repše S, Bracko M, Komel R. Significance of genetic abnormalities of p53 protein in Slovenian patients with gastric carcinoma. *Croat Med J* 2007; 48: 207–17.
20. Yamashita K, Sakuramoto S, Watanabe M. Genomic and epigenetic profiles of gastric cancer: potential diagnostic and therapeutic applications. *Surg Today* 2011; 41: 24–38.
21. Glinsky VV, Glinsky GV, Glinskii OV, Huxley VH, Turk JR, Mossine VV, et al. Intravascular metastatic cancer cell homotypic aggregation at the sites of primary attachment to the endothelium. *Cancer Res* 2003; 63: 3805–11.
22. Abbaszadegan MR, Moaven O, Sima HR, Gharfardegan K, A'Rabi A, Forghani MN, et al. p16 promoter hypermethylation: a useful serum marker for early detection of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2055–60.
23. Ikoma H, Ichikawa D, Daito I, Nobuyuki T, Koike H, Okamoto K, et al. Clinical application of methylation specific-polymerase chain reaction in serum of patients with gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 946–50.
24. Sakakura C, Hamada T, Miyagawa K, Nishio M, Miyashita A, Nagata H, et al. Quantitative analysis of tumor-derived methylated RUNX3 sequences in the serum of gastric cancer patients. *Anticancer Res* 2009; 29: 2619–25.
25. Ricke RM, van Ree JH, van Deursen JM. Whole chromosome instability and cancer: a complex relationship. *Trends Genet* 2008; 24: 457–66.
26. Martin SA, Hewish M, Lord CJ, Ashworth A. Genomic instability and the selection of treatments for cancer. *J Pathol* 2010; 220: 281–9.
27. Teixeira MR, Heim S. Multiple numerical chromosome aberrations in cancer: what are their causes and what are their consequences? *Semin Cancer Biol* 2005; 15: 3–12.
28. Grabsch HI, Askham JM, Morrison EE, Pomjanski N, Lickvers K, Parsons WJ, et al. Expression of BUB1 protein in gastric cancer correlates with the histological subtype, but not with DNA ploidy or microsatellite instability. *J Pathol* 2004; 202: 208–14.
29. Ottini L, Falchetti M, Lupi R, Rizzolo P, Agnese V, Colucci G, et al. Patterns of genomic instability in gastric cancer: clinical implications and perspectives. *Ann Oncol* 2006; 17 Suppl 7: vii97–vii102.
30. Buffart TE, Carvalho B, Mons T, Reis RM, Moutinho C, Silva P, et al. DNA copy number profiles of gastric cancer precursor lesions. *BMC Genomics* 2007; 8: 345.
31. Kang JU, Kang JJ, Kwon KC, Park JW, Jeong TE, Noh SM, et al. Genetic alterations in primary gastric carcinomas correlated with clinicopathological variables by array comparative genomic hybridization. *J Korean Med Sci* 2006; 21: 656–65.
32. Birkbak NJ, Eklund AC, Li Q, McClelland SE, Endesfelder D, Tan P, et al. Paradoxical relationship between chromosomal instability and survival outcome in cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 3447–452.
33. Varis A, van Rees B, Weterman M, Ristimäki A, Offerhaus J, Knuutila S. DNA copy number changes in young gastric cancer patients with special reference to chromosome 19. *Br J Cancer* 2003; 88: 1914–9.

34. Buffart TE, Carvalho B, Hopmans E, Brehm V, Kranenbarg EK, Schaaij-Visser TB, et al. Gastric cancers in young and elderly patients show different genomic profiles. *J Pathol* 2007; 211: 45–51.
35. Kondo T, Oue N, Mitani Y, Kuniyasu H, Noguchi T, Kuraoka K, et al. Loss of heterozygosity and histone hypoacetylation of the PINX1 gene are associated with reduced expression in gastric carcinoma. *Oncogene* 2005; 24: 157–64.
36. Hong SJ, Jeon EJ, Oh JH, Seo EJ, Choi SW, Rhyu MG. The gene-reduction effect of chromosomal losses detected in gastric cancers. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 138.
37. Karaman A, Kabalar ME, Binici DN, Ozturk C, Pirim I. Genetic alterations in gastric precancerous lesions. *Genet Couns* 2010; 21: 439–50.
38. Castro dIP, Carcer dG, Malumbres M. A Census of Mitotic Cancer Genes: New Insights into Tumor Cell Biology and Cancer Therapy. *Carcinogenesis* 2007; 28: 899–912.
39. Gollin SM. Mechanisms leading to chromosomal instability. *Semin Cancer Biol* 2005; 15: 33–42.
40. Schmit TL, Ahmad N. Regulation of mitosis via mitotic kinases: new opportunities for cancer management. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 1920–31.
41. Duesberg P, Li R, Fabarius A, Hehlmann R. The chromosomal basis of cancer. *Cell Oncol* 2005; 27: 293–318.
42. Matysiak-Budnik T, Megraud F. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Eur J Cancer* 2006; 42: 708–16.
43. Shepard JL, Amatruda JF, Finkelstein D, Ziai J, Finley KR, Stern HM, et al. A mutation in separase causes genome instability and increased susceptibility to epithelial cancer. *Genes Dev* 2007; 21: 55–9.
44. Tomonaga T, Nomura F. Chromosome instability and kinetochore dysfunction. *Histol Histopathol* 2007; 22: 191–7.
45. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle kinases in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2007; 17: 60–5.
46. Duesberg P, Rasnick D. Aneuploidy, the somatic mutation that makes cancer a species of its own. *Cell Motil Cytoskeleton* 2000; 47: 81–107.
47. Frank SA. Genetic predisposition to cancer—insights from population genetics. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 764–72.
48. Hudler P, Simic M, Frkovic-Grazio S, Komel R. Polymorphisms in TTK and BUB1B genes in Slovenian patients with gastric cancer. In: Juvan P, ed. 5th CFGBC Symposium; June 2010; Ljubljana. Ljubljana: Faculty of Medicine; 2010. p. 47.