

Novosti u karcinogenezi karcinoma želuca

Radošević, Luka

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:456961>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-29**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Luka Radošević

Novosti u karcinogenezi karcinoma želuca

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2024.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za gastroenterologiju i hepatologiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice pod vodstvom mentora izv.prof.dr.sc. Nevena Baršića i predan je na ocjenu Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u akademskoj 2023./2024. godini.

KRATICE

5-FU – 5 - fluorouracil

ACS – American Cancer Society (hrv. Američko društvo za rak)

AKBA- acetyl-11-keto- β -boswellic acid (hrv. acetil-11-keto- β -bosvelična kiselina)

APC gen– adenomatous polyposis coli gene (hrv. gen za adenomatoznu polipozu kolona)

ARHGAP - Rho GTPase – activating protein (hrv. Rho GTPaza aktivirajući protein)

ARID1A – AT- rich interaction domain 1A (hrv. gen za domenu interakcije bogatu AT sekvencama 1A)

ATM – ataxia telangiectasia mutated (hrv. gen za ataksiju – teleangiektaziju)

Avb3/ERK1/2 – Avb3 integrin / extracellular signal – regulated kinase 1/2 (hrv. Avb integrin / ekstracelularnim signalom regulirana kinaza 1/2)

B2M - beta – 2 microglobulin (hrv. beta - 2 mikroglobulin)

BART – BamHI – attenuated rightward transcript (hrv. BamHI – određeni desni transkript)

BE – Barrett's esophagus (hrv. Barrettov jednjak)

BRCA1 – breast cancer 1 gene (hrv.gen za rak dojke 1)

BRCA2 – breast cancer 2 gene (hrv. gen za rak dojke 2)

CAF – cancer – associated fibroblast (hrv. fibroblasti povezani s karcinomom)

CagA – cytotoxin – associated gene A (hrv. gen A povezan s citotoksinom)

CagPAI – Cag pathogenicity island (hrv. Cag patogenetski otok)

CDH1 – cadherin 1 (hrv. kadherin 1)

CDKN2A – cyclin – dependent kinase inhibitor (hrv. inhibitor kinaze ovisne o ciklinu 2A)

CIMP-H – CpG island methylator phenotype – high (hrv. visoko metilirajući fenotip GpG otoka)

CIN – chromosomal instability (hrv. kromosomska nestabilnost)

CK1 – casein kinase 1 (hrv. kazeinska kinaza)

CLDN18 - Claudin 18

c-Myc – cellular Myc oncoprotein (hrv. stanični Myc onkoprotein)

CSC – cancer stem cells (hrv. tumorske matične stanice)

CTL – cytotoxic T lymphocytes (hrv. citotoksični T limfociti)

CTNNB1 – catenin beta 1 gene (hrv. gen koji kodira beta katenin 1)

DBZ – diazabicyclooctane (hrv. diazabiciklooktan)

DC – dendritic cells (hrv. dendritičke stanice)

DGC – diffuse gastric cancer (hrv. difuzni karcinom želuca)

DKK - dickkopf

DLL 1,3,4 – delta – like ligand 1,3,4

DNA – deoxyribonucleic acid (hrv. deoksiribonukleinska kiselina)

DNMT3A – DNA methyltransferase 3A (hrv. DNA metiltransferaza 3A)

DNMT3B – DNA methyltransferase 3B (hrv. DNA metiltransferaza 3B)

E2F1 -E2F transcription factor 1 (hrv. E2F transkripcijski faktor 1)

EBNA1 – Epstein – Barr nuclear antigen (hrv. nuklearni antigen Epstein – Barr virusa)

EBV – Epstein-Barr virus

EBVaGC – Epstein – Barr virus – associated gastric cancer (hrv. karcinom želuca povezan s Epstein – Barr virusom)

EBVnGC – Epstein – Barr virus – negative gastric cancer (hrv. karcinom želuca negativan na Epstein – Barr virus)

ECM – extracellular matrix (hrv. izvanstanični matriks)

EGF – epidermal growth factor (hrv. epidermalni faktor rasta)

EGFR - epidermal growth factor receptor (hrv. receptor za epidermalni faktor rasta)

EGJ - esophagogastric junction (hrv. ezofagogastrični spoj)

EHME – extremely high methylation epigenotype (hrv. ekstremno visoko-metilirajući epigenotip)

EMT – epithelial – mesenchymal transition (hrv. epitelno – mezohimalna tranzicija)

EZH2 – enhancer of zeste homolog 2 (hrv. pojačivač zeste homologa 2)

FAT1 – FAT tumor suppressor 1 (hrv. FAT supresor tumora 1)

FGFR2 – fibroblast growth factor receptor 2 (hrv. receptor 2 za faktor rasta fibroblasta)

Fz – frizzled

GCSC – glutamate cysteine ligase catalytic subunit (hrv. katalitička podjedinica glutamat – cisteinske ligaze)

GLI1 – glioma – associated oncogene homolog 1 (hrv. onkogeni homolog 1 povezan s gliomom)

GLI2-ABCG2 – glioma – associated oncogene homolog 2 – ATP – binding cassette subfamily G member 2 (hrv. onkogeni homolog 2 povezan s gliomom– ATP – vezajući kasetni transportni protein subobitelji G, član 2)

GS – genomic stability (hrv. genomska stabilnost)

GSI – gamma – secretase inhibitor (hrv. inhibitor gama – sekretaze)

GSK3 – glycogen synthase kinase 3 (hrv. glikogen sintaza kinaza 3)

GSK3 α - glycogen synthase kinase 3 α (hrv. glikogen sintaza kinaza 3 α)

GSK3 β – glycogen synthase kinase 3 beta (hrv. kinaza glikogenske sintaze 3 beta)

Gy – Gray; mjerna jedinica za apsorbiranu dozu ionizirajućeg zračenja

H3K27 – histone H3 lysine 27 (hrv. histonski H3 lizin 27)

H3K27me3 – histone H3 lysine 27 trimethylation (hrv. histonska H3 lizin 27 trimetilacija)

H3K36me3 – histone H3 lysine 36 trimethylation (hrv. histonska H3 lizin 36 trimetilacija)

H3K4 – histone H3 lysine 4 (hrv. histonski H3 lizin 4)

H3K9 – histone H3 lysine 9 (hrv. histonski H3 lizin 9)

HAT – histone acetyltransferases (hrv. histonske acetiltransferaze)

HAV sekvenca – histidine-alanine-valine sequence (hrv. histidin–alanin-valin sekvenca)

HDAC – histone deacetylases (hrv. histonske deacetilaze)

HDAC1 - histone deacetylases 1 (hrv. histonske deacetilaze 1)

HDGC – hereditary diffuse gastric cancer (hrv. nasljedni difuzni karcinom želuca)

HER2 – human epidermal growth factor receptor 2 (hrv. receptor za humani epidermalni faktor rasta 2)

HER2- human epidermal growth factor receptor (hrv. receptor za humani epidermalni faktor rasta)

HH - hedgehog

HIPK1 – homeodomain – interacting protein kinase 1 (hrv. kinaza interreagirajuća s homeodomenom)

HME - high methylation epigenotype (hrv. visoko-metilirajući epigenotip)

HR – homologous recombination (hrv. homologna rekombinacija)

IFN- γ – interferon γ

IL – interleukin

IM – intestinal metaplasia (hrv. intestinalna metaplazija)

IORT – intraoperative radiotherapy (hrv. intraoperativna radioterapija)

kb – kilobase (hrv. kilobaza) ; mjerna jedinica za duljinu lanaca DNA/RNA

kDa – kilodalton ; jedinica mase

KMT - Lysine (K)-specific methyltransferases (hrv. lizinske metiltransferaze)

KRAS – Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (hrv. virusni homolog onkogene za Kirstenov sarkom u štakora)

LME – low methylation epigenotype (hrv. nisko-metilirajući epigenotip)

LOX - gen – lysil oxidase gene (hrv. gen za lizil oksidazu)

LRP5/6 – low density lipoprotein receptor – related protein 5/6 (hrv. receptor sličan lipoproteinu niske gustoće 5/6)

MAPK – mitogen-activated protein kinase (hrv. mitogen – aktivirana protein kinaza)

MET – mesenchymal – epithelial transition factor (hrv. mezenhimalno – epitelni faktor prijelaza)

MHC-I – major histocompatibility complex class I (hrv. glavni kompleks histokompatibilnosti klasa I)

MHC-II - major histocompatibility complex class II (hrv. glavni kompleks histokompatibilnosti klasa II)

MiRNA – microRNA (hrv. mikroRNA)

MLH1 – mutL homolog 1 gene (hrv. gen mutL homolog 1)

MMP-2 – matrix metalloproteinase – 2 (hrv. metaloproteinaza matrice - 2)

MMP-9– matrix metalloproteinase – 9 (hrv. metaloproteinaza matrice - 9)

mRNA – messenger ribonucleic acid (hrv. glasnička ribonukleinska kiselina)

MSC – mesenchymal stem cells (hrv. mezenhimalne matične stanice)

MSH2 - mutS homolog 2 gene(hrv. gen mutS homolog 2)

MSH6 - mutS homolog 6 gene(hrv. gen mutS homolog 6)

MSI – microsatellite instability (hrv. mikrosatelitna nestabilnost)

NF- κ B – nuclear factor kappa B (hrv. nuklearni faktor kappa B)

NHEJ – non – homologous end joining (hrv. nehomologno spajanje krajeva)

NICD – Notch intracellular domain (hrv. Notch intracelularna domena)

NPC – nasopharyngeal cancer (hrv. nazofaringealni karcinom)

P120 – protein 120 – catenin (hrv. protein 120 – katenin)

P21 – cyclin – dependent kinase inhibitor 1A (hrv. inhibitor kinaze ovisne o ciklinu 1A)

P53 – tumor protein 53 (hrv. tumorski protein 53)

PALB2 – partner and localizer of BRCA2 gene (hrv. gen partner i lokalizator BRCA2)

PC – pericytes (hrv. periciti)

PDGFR – platelet-derived growth factor receptor (hrv. receptor za faktor rasta dobiven iz trombocita)

PD-L1- programmed death - ligand 1 (hrv. ligand za programiranu smrt 1)

PD-L2- programmed death - ligand 2 (hrv. ligand za programiranu smrt 2)

PI3K – phosphatidylinositol-3-kinase (hrv. fosfatidilinozitol-3-kinaza)

PI3K/AKT – phosphatidylinositol – 3 -kinase/protein kinase B (hrv. fosfatidilinozitol – 3-kinaza/ protein kinaza B)

PIK3CA – phosphatidylinositol 3- kinase, catalytic subunit alpha (hrv. fosfatidilinozitol-3-kinaza, podjedinica alfa)

PML – promyelocytic leukemia (hrv.promijelocitna leukemija)

PRC – polycomb repressive complex (hrv. polikombinativni represivni kompleks)

PRMT – protein arginine methyltransferase (hrv. argininska metiltransferaza)

RAS – rat sarcoma

RECK – reversion inducing cysteine – rich protein with Kazal motifs (hrv. protein bogat cisteinom s Kazalovim motivima; koji uzrokuje reverziju)

RHOA- ras homolog family member A (hrv. član obitelji ras homolog A)

RNS – reactive nitrogen species (hrv. reaktivne dušične vrste/spojevi)

ROS – reactive oxygen species (hrv. reaktivne kisikove vrste/spojevi)

RTK – receptor tyrosine kinase (hrv. receptorska tirozin kinaza)

RUNX3 – runt- related transcription factor 3 (hrv. transkripcijski faktor 3 povezan s runt)

sCNAs – somatic copy number alternations (hrv. somatske promjene u broju kopija)

Sfrp – secreted fizzled related protein (hrv. izlučeni frizzled – sličan protein)

SHH – sonic hedgehog

SMO - smoothed

SMOX – spermine oxidase (hrv. spermin oksidaza)

SPEN – spen family transcriptional repressor (hrv. transkripcijski represor iz obitelji spen)

STAT1 – signal transducer and activator of transcription 1 (hrv. prenositelj signala i aktivator transkripcije 1)

TCF/LEF – T - cell factor / lymphoid enhancer factor (hrv. T - stanični faktor / limfoidni pojačivač faktor)

TEC – tumor endothelial cells (hrv. tumorske endotelne stanice)

TME – tumor microenvironment (hrv. tumorski mikrokoliš)

TNM – tumor/ node/ metastasis (hrv. tumor/ čvor/metastaze) ; tumorska klasifikacija

TP53 – tumor suppressor protein 53 (hrv. tumorski supresorski protein p53) ; gen koji kodira p53 protein

USF1 – upstream stimulating factor 1 (hrv. faktor uzvodne stimulacije 1)

VacA – vacuolating cytotoxin A (hrv. vakuolizirajući citotoksin A)

WAP1/CIP1 – wild – type p53 -activated factor 1/ cyclin dependent kinase inhibitor 1 (hrv. protein aktiviran divljim tipom p53/ inhibitor ciklinskih kinaza 1)

ZEB1 – zinc finger E Box binding homeobox 1 (hrv. cinkov prst E – box vezajući homeobox 1)

ZEB2 - zinc finger E Box binding homeobox 2 (hrv. cinkov prst E – box vezajući homeobox 2)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Epidemiologija karcinoma želuca	5
1.2. Etiopatogeneza karcinoma želuca	8
1.3. Klinička slika, dijagnostika i liječenje karcinoma želuca	9
2. GENETSKE PROMJENE (MUTACIJE I ABERACIJE) U KARCINOGENEZI KARCINOMA ŽELUCA	12
2.1. Mutacije <i>TP53</i> gena	13
2.2. Mutacije <i>CDH1</i> gena	15
2.3. Mutacije <i>PIK3CA</i> gena	17
3. EPIGENETSKE PROMJENE U KARCINOGENEZI KARCINOMA ŽELUCA ...	19
3.1. Metilacija DNA	19
3.2. Modifikacije histona (metilacija i acetilacija)	21
4. ULOGA SIGNALNIH PUTEVA U KARCINOGENEZI KARCINOMA ŽELUCA .	24
4.1. Wnt/beta kateninski put	24
4.2. Hedgehog signalni put	27
4.3. Notch signalni put	28
5. ULOGA MIKROOKOLINE U KARCINOGENEZI KARCINOMA ŽELUCA	31
5.1. Uloga mikrobioma	31
5.1.1. Utjecaj infekcije <i>H. pylori</i> i kronične upale	32
5.1.2. Karcinomi povezani s EBV infekcijom	34
5.2. Uloga stanica tumorskog mikrokoliša	36
6. ZAKLJUČAK	39
ZAHVALE	39
LITERATURA	40
ŽIVOTOPIS	49

SAŽETAK

Novosti u karcinogenezi karcinoma želuca

Luka Radošević

Rak želuca je nekoć bio drugi najčešći rak u svijetu, no stope incidencije su značajno smanjene zahvaljujući poboljšanim sanitarnim uvjetima, upotrebi antibiotika i povećanoj konzumaciji svježeg voća i povrća. Unatoč tome, rak želuca ostaje izazovan za liječenje u zapadnim zemljama gdje se često dijagnosticira u uznapredovaloj fazi. Glavna zapažanja rada uključuju identificiranje ključnih genetskih mutacija poput TP53, CDH1 i PIK3CA, koje igraju ključnu ulogu u razvoju i progresiji karcinoma želuca. Autor također ističe važnost epigenetskih promjena poput metilacije DNA i modifikacija histona koje doprinose deregulaciji gena bitnih za staničnu proliferaciju i preživljavanje. Uloga signalnih putova kao što su Wnt/beta-kateninski i Hedgehog također je značajna u regulaciji staničnih procesa poput proliferacije, diferencijacije i apoptoze. Mikrokolina tumora, uključujući mikrobiom i imunosne stanice, također ima važnu ulogu u progresiji bolesti, gdje kronična upala uzrokovana infekcijom bakterijom *H. pylori* može dovesti do oštećenja stanica i genetskih mutacija. Autor naglašava da unatoč napretku u razumijevanju molekularnih mehanizama, rak želuca ostaje izazov za liječenje. Poboljšanja u terapijskim pristupima, uključujući ciljane terapije i imunoterapiju, te daljnje istraživanje genetskih i epigenetskih promjena ključni su za unapređenje liječenja i prognoze pacijenata s ovom bolešću.

Ključne riječi: karcinom želuca, TP53, CDH1, PIK3CA, hedgehod, notch, wnt/beta

SUMMARY

Update in gastric cancer carcinogenesis

Luka Radošević

Gastric cancer was once the second most common cancer in the world, but the incidence rates have significantly decreased due to improved sanitary conditions, the use of antibiotics, and increased consumption of fresh fruits and vegetables. Nevertheless, gastric cancer remains challenging to treat in Western countries where it is often diagnosed at an advanced stage. The main findings of the study include the identification of key genetic mutations such as TP53, CDH1, and PIK3CA, which play a crucial role in the development and progression of gastric cancer. The author also emphasizes the importance of epigenetic changes such as DNA methylation and histone modifications that contribute to the deregulation of genes essential for cell proliferation and survival. The role of signaling pathways like Wnt/beta-catenin and Hedgehog is also significant in regulating cellular processes such as proliferation, differentiation, and apoptosis. The tumor microenvironment, including the microbiome and immune cells, also plays an important role in disease progression, where chronic inflammation caused by *H. pylori* infection can lead to cell damage and genetic mutations. The author highlights that despite advancements in understanding the molecular mechanisms, gastric cancer remains a challenge to treat. Improvements in therapeutic approaches, including targeted therapies and immunotherapy, as well as further research into genetic and epigenetic changes, are crucial for improving the treatment and prognosis of patients with this disease.

Key words: *gastric cancer, TP53, CDH1, PIK3CA, Hedgehog, Notch, Wnt/beta*

1. UVOD

Rak želuca (slika 1.) nekoć je bio drugi najčešći rak u svijetu. U većini razvijenih zemalja, međutim, stope raka želuca dramatično su se smanjile u posljednjih pola stoljeća. Ovaj trend pada incidencije u zapadnim zemljama najbolje se može uočiti na primjeru Sjedinjenih Država, gdje maligni tumor želuca trenutno zauzima 15. mjesto na tablici učestalosti maligniteta [1]. Smanjenje incidencije raka želuca djelomično se pripisuje širokoj upotrebi hladnjaka, što je imalo nekoliko korisnih učinaka: povećana konzumacija svježeg voća i povrća; smanjeni unos soli, koja se koristila kao konzervans za hranu i smanjena kontaminacija hrane kancerogenim spojevima koji proizlaze iz raspadanja neohlađenih mesnih proizvoda. Sol i slana hrana mogu oštetiti želučanu sluznicu, dovesti do upale i povezanog povećanja sinteze deoksiribonukleinske kiseline (DNA) i proliferacije stanica. Ostali čimbenici koji vjerojatno pridonose padu stope raka želuca uključuju niže stope kronične infekcije *Helicobacter pylori*, zahvaljujući poboljšanim sanitarnim uvjetima i upotrebi antibiotika te povećanom probiru u nekim zemljama [2].

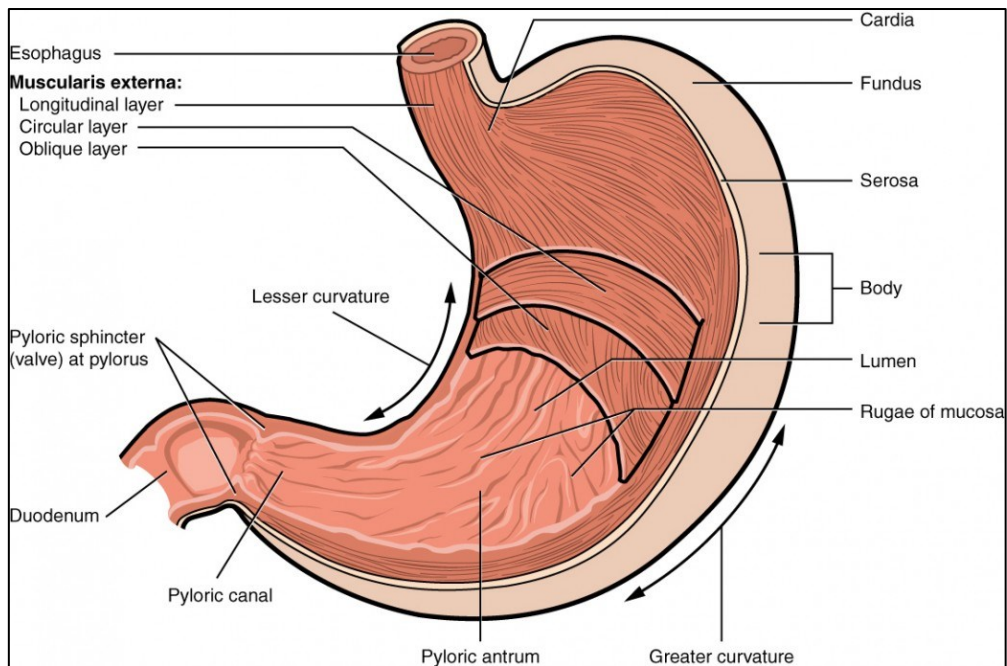


Slika 1. Prikaz karcinoma želuca u ranoj fazi

Izvor: [3]

Unatoč tome, rak želuca i dalje je teško izlječiv u zapadnim zemljama, prvenstveno zato što većina pacijenata ima uznapredovalu bolest. Čak i pacijenti koji se javljaju u najpovoljnijem stanju i koji se podvrgnu kurativnoj kirurškoj resekciji često umiru od recidiva bolesti.

Liječenje raka želuca zahtijeva temeljito razumijevanje anatomije želuca (slika 2.). Želudac počinje na gastroezofagealnom prijelazu i završava u dvanaesniku. Želudac ima četiri glavna dijela: najproksimalnije je smještena kardija; sljedeći je fundus koji služi kao dodatni rezervoar za hranu i zrak; kaudalnije kardije i fundusa se nalazi tijelo (lat. corpus); konačno najdistalniji dio, pilorus, nastavlja se na dvanaesnik. Ove anatomske zone imaju različite histološke značajke. Kardija sadrži pretežno stanice koje izlučuju mucin. Fundus i corpus sadrže mukoidne stanice, glavne stanice i parijetalne stanice. Pilorus se sastoji od stanica koje proizvode sluz i endokrinih stanica [4].



Slika 2. Anatomski prikaz želuca

Izvor: [5]

Želučana stijenka sastoji se od pet slojeva. Od lumena prema van, slojevi su sljedeći [8]:

- Mukoza
- Submukoza
- Mišićni sloj
- Subseroza
- Seroza

Izvana, peritoneum velike vrećice pokriva prednju površinu želuca. Dio male vrećice pokriva posteriorni segment želuca. Desni dio prednje želučane površine nalazi se uz lijevi režanj jetre i prednji trbušni zid. Lijevi dio želuca nalazi se uz slezenu, lijevu nadbubrežnu žlijezdu, gornji dio lijevog bubrega, ventralni dio gušterače i poprečno debelo crijevo [6].

Lokalizacija raka želuca klasificira se na temelju njegovog odnosa prema uzdužnoj osi želuca. Otprilike 40% karcinoma razvija se u donjem dijelu, 40% u srednjem dijelu, a

15% u gornjem dijelu; 10% uključuje više od jednog dijela organa. Najveći dio smanjenja učestalosti i smrtnosti od raka želuca u Sjedinjenim Državama odnosi se na rak u donjem dijelu želuca; incidencija adenokarcinoma u kardiji zapravo je pokazala postupni porast [7].

Općenito se smatra da intestinalni tip ne-kardijalnog raka želuca nastaje zbog infekcije *Helicobacter pylori*, koja započinje slijed koji napreduje od kroničnog neatrofičnog gastritisa do atrofičnog gastritisa, zatim intestinalne metaplazije i konačno displazije. Ova progresija je poznata kao *Correa* kaskada. U populacijskoj kohortnoj studiji, švedski su istraživači otkrili da su nakon 2 godine latencije pacijenti s prekanceroznim lezijama želuca bili izloženi većem riziku od raka želuca nego opća švedska populacija, a taj je rizik postojano rastao s progresijom kroz *Correinu* kaskadu. Istraživači su procijenili 20-godišnji rizik od raka želuca u pacijenata s određenim nalazima gastroskopije. Rezultati su bili sljedeći [8]:

- Normalna sluznica – 1 novooboljeli na 256
- Gastritis – 1 novooboljeli na 85
- Atrofični gastritis – 1 novooboljeli na 50
- Intestinalna metaplazija – 1 novooboljeli na 39
- Displazija – 1 novooboljeli na 19

Razumijevanje vaskularne opskrbe želuca omogućuje razumijevanje puteva hematogenog širenja. Vaskularna opskrba želuca potječe iz celijačnog debla (lat. *Truncus coeliacus*). Lijeva želučana arterija, grana *truncusa coeliacusa*, opskrbljuje gornji desni dio želuca. Zajednička jetrena arterija grana se u desnu želučanu arteriju, koja opskrbljuje donji dio želuca, i desnu gastroepiploičnu granu, koja opskrbljuje donji dio velike zakrivljenosti [8].

Poznavanje limfne drenaže može poboljšati razumijevanje u kojim nodalnim skupinama možemo očekivati tumorske presadnice s obzirom na sijelo tumora. Primarna limfna drenaža je duž celijačne osi. Manji dio drenaže javlja se duž hilusa slezene, suprapankreatičnih nodalnih skupina, porta hepatisa i gastroduodenalnih područja.

1.1. Epidemiologija karcinoma želuca

Stope incidencije raka želuca u značajnom su padu diljem svijeta. Međutim, krivulja pada incidencije nije u potpunosti linearnog tijeka u nekim regijama kao što su Kina i Japan. Pad stopa raka želuca može biti posljedica identifikacije i liječenja zaraznih uzroka uz modifikacije životnog stila prehrane i čimbenika rizika iz okoliša, ali je još uvijek uobičajena u regijama svijeta gdje su skladištenje svježih hrane i kvaliteta vode loši. Velika većina karcinoma želuca javlja se u zemljama u razvoju, dva puta češće kod muškaraca nego kod žena, češće kod crnaca nego kod bijelaca. Najmanja je učestalost u bjelačkom zapadnom društvu s višim socioekonomskim statusom [9].

Migracijske studije poduprle su dokaze o učinku promjena načina života na razvoj raka želuca, jer druga i treća generacija rođena u Sjedinjenim Državama imaju niže stope pobola u usporedbi sa svojim precima. Takav je primjer dokazan na japanskim migrantima. Prijašnji koncepti raka želuca snažno podržavaju ideju da su prehrambeni, socioekonomski i medicinski čimbenici, a ne genetska predispozicija, odgovorni za ovo stanje. Histološki obrasci pojavnosti raka želuca također su doživjeli epidemiološku promjenu. Intestinalni želučani tip (70%) u postupnom je opadanju, ali je i dalje češći nego li difuzni. Karakteristično je da se viđa kod muškaraca iznad petog desetljeća s povezanim čimbenicima okoliša. Nasuprot tome, difuzni ili infiltrativni tip je rjeđi (30%), ali se dijagnosticira u mlađoj dobi u oba spola i ima lošiju prognozu. Proksimalna mala zakrivljenost, kardijalni i ezofagogastrični spoj (engl. *Esophagogastric junction*, EGJ) najčešća su mjesta razvoja karcinoma u zapadnim zemljama, dok neproksimalna i dalje prevladavaju u Japanu. U Japanu je rak želuca povezan s izrazito boljom prognozom nego u Sjedinjenim Državama, uglavnom zahvaljujući endoskopskim programima probira koji doprinose otkrivanju ranih lezija i potencijalno izlječivog stadija [10].

Američko društvo za rak (engl. *American Cancer Society*, ACS) navodi da petogodišnja stopa preživljavanja za rak želuca varira ovisno o stadiju bolesti. Za lokalizirani rak želuca stopa preživljavanja je 75%, za regionalni je 35%, dok je za metastatski rak želuca samo 7%. Prognoza zavisi od stadija bolesti i općeg zdravlja pacijenta [11]. Srednja dob pri postavljanju dijagnoze je 68 godina [2]. Tijekom prošlog desetljeća,

stopa novih slučajeva raka želuca smanjila se za oko 1,5% godišnje . Kako je već spomenuto na početku, rak želuca je 15. najčešći rak u SAD-u [1,12].

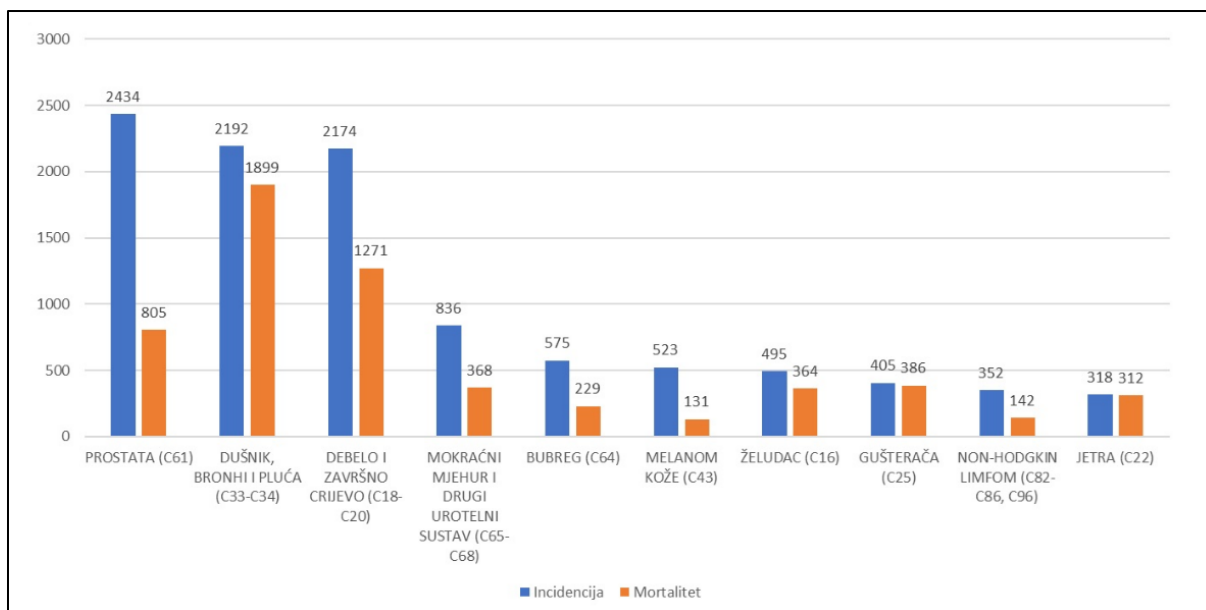
Nekada drugi najčešći rak u svijetu, rak želuca pao je na peto mjesto, nakon raka dojke, pluća, kolorektuma te prostate [10]. Svjetska zdravstvena organizacija procjenjuje da je 2020. godine incidencija raka želuca dosegla vrtohlavih 1 090 000 slučajeva, dok je rak želuca bio uzrok 769 000 smrtnih slučajeva diljem svijeta [1].

Širom svijeta postoje ogromne geografske razlike u učestalosti ove bolesti. Stope bolesti su niske u Africi, Sjevernoj Americi i sjevernoj Europi, a najviše u istočnoj Aziji (npr. Mongolija, Japan, Republika Koreja) i istočnoj Europi. Najveće stope smrtnosti zabilježene su u zemljama južne središnje Azije, uključujući Iran, Afganistan, Turkmenistan i Kirgistan [13].

Koristeći podatke iz 92 registra raka u 34 zemlje koje predstavljaju 10 svjetskih regija, Arnold i suradnici predvidjeli su da će ukupne stope incidencije raka želuca nastaviti padati u većini zemalja, uključujući zemlje s visokom incidencijom poput Japana, kao i one s niskom incidencijom poput Australije. Do 2035. stope incidencije u 16 od te 34 zemlje past će ispod praga rijetke bolesti (definiranog kao 6 na 100 000 osoba godišnje) [14].

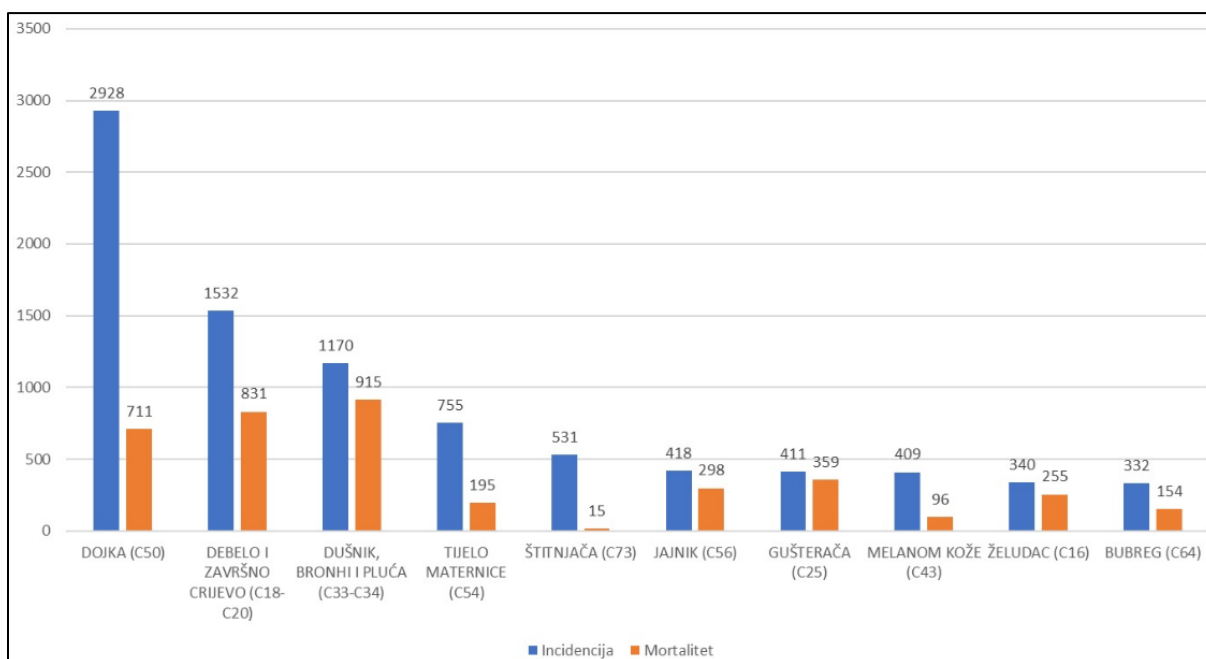
Usprkos tome, očekuje se porast apsolutnog broja novih slučajeva raka želuca u većini zemalja. Novi slučajevi mogli bi se udvostručiti u Kanadi, Cipru, Južnoj Koreji, Slovačkoj i Tajlandu, dok bi se u nekoliko drugih zemalja (npr. Bugarska, Litva) blago smanjio [15]. Dok su opadajuće ili stabilne stope incidencije dosljedno uočene kod ljudi u dobi od 50 godina i više, Arnold i suradnici su predvidjeli porast incidencije kod onih mlađih od 50 godina u 15 od 34 zemlje, uključujući Bjelorusiju, Čile, Nizozemsku, Kanadu i Ujedinjeno Kraljevstvo [15].

Što se tiče pojavnosti raka želuca u Republici Hrvatskoj, kod muškaraca je on na sedmom mjestu, dok kod žena zauzima deveto mjesto (slika 3.). Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, u 2021. godini zabilježeno je ukupno 24 834 novih slučajeva raka u Hrvatskoj, od čega 835 maligniteta želuca. Najčešći oblici raka kod muškaraca bili su rak prostate, pluća i debelog crijeva, dok su kod žena dominirali rak dojke, debelog crijeva i pluća. Stopa incidencije raka iznosi 640,2 na 100.000 stanovnika, s najvišim stopama u Varaždinskoj i Međimurskoj županiji za muškarce te Gradu Zagrebu i Splitsko-dalmatinskoj županiji za žene [16].



Slika 3. Najčešća sijela raka u muškaraca u 2021. godini

Izvor: [16]



Slika 4. Najčešća sijela raka u žena u 2021. godini

Izvor: [16]

1.2. Etiopatogeneza karcinoma želuca

Može se reći za rak želuca da je multifaktorsko oboljenje jer uključuje nasljednu predispoziciju i čimbenike okoliša. Okolišni čimbenici uključeni u razvoj raka želuca jesu sljedeći:

- Prehrana
- Infekcija *Helicobacter pylori*
- Prethodna želučana operacija
- Perniciozna anemija
- Adenomatozni polipi
- Kronični atrofični gastritis
- Izloženost zračenju
- Životne navike (pušenje, alkohol)

Prehrana bogata ukiseljenim povrćem, usoljenom ribom, solju i dimljenim mesom povezana je s povećanom pojavnosti raka želuca [17]. Prehrana koja uključuje voće i povrće bogato vitaminom C može imati zaštitni učinak [17].

Pušenje je povezano s povećanom učestalošću raka želuca ovisno o dozi, kako za broj cigareta tako i za duljinu pušenja. Pušenje povećava rizik od kardijalnih i nekardijalnih oblika raka želuca [18]. Prestanak pušenja smanjuje rizik. Meta-analiza 40 studija procjenjuje da je rizik povećan za otprilike 1,5 do 1,6 puta i da je veći kod muškaraca [19].

Kronična bakterijska infekcija *H. pylori* naj snažniji je faktor rizika za rak želuca. Pretpostavke su da je *H. pylori* prisutan u 50% svjetske populacije, ali mnogo manje od 5% zaraženih pojedinaca razvije rak. Predmnijeva se da je samo određeni soj *H. pylori* snažno povezan sa zloćudnom bolešću, vjerojatno zato što je sposoban izazvati značajnu razinu upale. Nadalje, potpuna maligna transformacija zahvaćenih dijelova želuca može zahtijevati da ljudski domaćin ima određeni genotip interleukina (IL) kako bi uzrokovao povećanu upalu i povećanu supresiju izlučivanja želučane kiseline. Na primjer, IL-17A i IL-17F su upalni citokini koji igraju ključnu ulogu u upali. Wu i suradnici

otkrili su da je nositeljstvo genotipova IL-17F 7488GA i GG povezano s povećanim rizikom od raka želuca [20].

Japanska studija na 10 426 pacijenata s rakom želuca i 38 153 pacijenata kontrolne skupine identificirala je kombinirani učinak patogenih varijanti u genima koji predisponiraju rak i infekcije *H. pylori* na rizik od raka želuca. Povišeni rizik od raka želuca pronađen je u svezi s patogenim varijantama germinativne linije u devet gena (APC, ATM, BRCA1, BRCA2, CDH1, MLH1, MSH2, MSH6 i PALB2). Kumulativni rizik od raka želuca do 85. godine života bio je veći u osoba koje su nosile patogene varijante u genima homologne rekombinacije i infekcije *H. pylori* nego u osoba koje nisu nositelji *H. pylori* (45,5% [95% CI, 20,7 do 62,6] naspram 14,4% [95% CI, 12,2 do 16,6]) [21].

Infekcija *H. pylori* povezana je s kroničnim atrofičnim gastritisom, a pacijenti s poviješću dugotrajnog gastritisa imaju šesterostruko veći rizik od razvoja raka želuca. Zanimljivo je da je ova povezanost osobito jaka za tumore smještene u antrumu, tijelu i fundusu želuca, ali ne izgleda da vrijedi za tumore koji potječu iz kardije [22].

1.3. Klinička slika, dijagnostika i liječenje karcinoma želuca

Rana bolest nema povezanih simptoma; s toga se vrlo rijetko dijagnosticira rani rak želuca. Većina simptoma raka želuca, na žalost, odraz je uznapredovale bolesti. Pacijenti se mogu žaliti na jedno ili više od sljedećeg:

- Probavne smetnje
- Mučnina ili povraćanje
- Disfagija
- Postprandijalna punoća
- Gubitak apetita
- Melena
- Hematemeza
- Gubitak težine

Kasne komplikacije uključuju sljedeće:

- Patološki peritonealni i pleuralni izljevi
- Začepljenje piloričkog sfinktera, gastroezofagealnog spoja ili tankog crijeva
- Krvarenje u želucu iz varikoziteta jednjaka ili na anastomozi nakon operacije
- Intrahepatična žutica uzrokovana hepatomegalijom
- Ekstrahepatična žutica
- Iznemoglost kao posljedica gladovanja ili kaheksije tumorskog podrijetla

Dok se simptomi razvijaju, bolest je gotovo uvijek predaleko uznapredovala za kurativne postupke. Znakovi mogu uključivati palpabilni povećani želudac sa sukusijom; hepatomegalija; i povećane limfne čvorove kao što su Virchowovi čvorovi (tj. lijevi supraklavikularni) i irski čvor (prednji aksilarni). Pojavnosti kao što su periumbilikalna metastaza (nodul Sister Mary Joseph) i Blumer's shelf (tj. tumor prednjeg rektalnog zida nalik na policu) također mogu biti prisutni. Paraneoplastični sindromi kao što su dermatomiozitis, *acanthosis nigricans* i circinatni eritemi su loša prognostička obilježja. Ostala povezana patologija uključuje periferni tromboflebitis i mikroangiopatsku hemolitičku anemiju [23].

Općenito pri liječenju karcinoma želuca većinom se izvodi totalna gastrektomija, ezofagogastrektomija za tumore kardije i gastroezofagealnog spoja ili subtotalna gastrektomija za tumore distalnog dijela želuca. Randomizirano ispitivanje koje je uspoređivalo subtotalnu i totalnu gastrektomiju za distalni karcinom želuca otkrilo je sličan morbiditet, mortalitet i stope 5-godišnjeg preživljavanja [24]. Zbog opsežne limfne mreže oko želuca i sklonosti ovog tumora mikroskopskom širenju, tradicionalna je praksa održavanja kirurškog ruba od minimalno 5 cm od primarne lezije.

Iako kirurgija ostaje zlatni standard u liječenju, očigledna je rastuća važnost adjuvantne terapije glede ukupnog preživljenja i smanjenja postoperativnih komplikacija u pacijenata s karcinomom želuca [25]. Također, recentni pomaci u primjeni kemoterapije pružili su novu nadu čak i onim pacijentima s metastatskom bolešću. Primjerice, primjena intraperitonealne kemoterapije pruža novu šansu pacijentima s peritonealnim metastazama i omogućuje resektabilnost tumora čak i nakon dijagnoze oligometastatske bolesti [26].

Neoadjuvantna kemoterapija može omogućiti smanjenje stadija bolesti kako bi se povećala resektabilnost, smanjilo opterećenje mikrometastatskom bolešću prije operacije, odredila osjetljivost kemoterapije, smanjila stopa lokalnih i udaljenih recidiva i naposljetku poboljšala preživljenje. Međutim, izbor prijeoperativne i postoperativne kemoterapije u odnosu na postoperativnu kemoterapiju ostaje kontroverzan. Europska randomizirana studija pokazala je korist u preživljenju kada su pacijenti liječeni s tri ciklusa preoperativne kemoterapije (epirubicin, cisplatin i 5-fluorouracil) nakon čega je uslijedio kirurški zahvat, a zatim tri ciklusa postoperativne kemoterapije u usporedbi sa samom operacijom. Korist je bila usporediva s onom dobivenom postoperativnom kemoradijacijom u američkom ispitivanju [27]. Međutim, Grupa za kemoterapiju želuca za Japan nije pokazala značajnu korist u preživljenju s neoadjuvantnom kemoterapijom.

Neki autori sugeriraju da intraoperativna radioterapija (IORT) pokazuje obećavajuće rezultate. Ova alternativna metoda primjene radioterapije omogućuje davanje visoke doze u jednoj frakciji u operacijskoj sali. Studija na pacijentima s grubo reseciranim stadijem III/IV karcinoma želuca, podijelila je ispitanike u dvije skupine. Jedni su primili 20 Gy IORT, a drugi pak 50 Gy postoperativnog vanjskog zračenja. Lokalni neuspjeh bio je odgođen u bolesnika liječenih IORT-om (21 mjesec u odnosu na 8 mjeseci). Iako je medijan trajanja preživljenja također bio veći (21 mjesec u odnosu na 10 mjeseci), ova brojka nije dosegla statističku značajnost [28].

2. GENETSKE PROMJENE (MUTACIJE I ABERACIJE) U KARCINOGENEZI KARCINOMA ŽELUCA

Razvoj želučanog karcinoma je kompleksan proces koji uključuje niz genetskih i epigenetskih promjena. Epigenetske promjene, poput DNA metilacije, te različite genetske aberacije značajno doprinose karcinogenezi karcinoma želuca. Uz DNA metilaciju, aberantne strukture kromatina također igraju ključnu ulogu u karcinogenezi želuca [29]. Ove strukturalne promjene mogu uzrokovati deregulaciju ekspresije gena, što je često prisutno u karcinomima. Na primjer, poznato je da EBV genom može interagirati s ljudskim genomom, uzrokujući promjene u strukturi kromatina koje rezultiraju aktivacijom proto-onkogeno. Ovo "preuređenje" kromatina može dovesti do aktivacije gena koji promoviraju rast tumora. Genetičke aberacije također igraju značajnu ulogu u razvoju karcinoma želuca. Mutacije gena TP53 su najčešće i prisutne su u približno polovici slučajeva karcinoma želuca. Mutacije gena CDH1 su također česte, posebno u difuznom tipu karcinoma želuca. Dodatne mutacije u genima kao što su PIK3CA, ARID1A i KRAS često se nalaze u različitim epigenotipovima karcinoma želuca [29]. Ovaj dio rada bit će posvećen u prvom redu TP53, CDH1 i PIK3CA mutacijama, budući da su u posljednjim godinama privukle značajan dio pažnje znanstvenika na području karcinoma želuca.

Osim mutacija, somatske kopije brojnih aberacija (sCNAs) i strukturne varijante također su važne za razvoj karcinoma. Na primjer, receptorski tirozin-kinazni (RTK) signalni putevi su često amplificirani u karcinomima želuca, uključujući gene poput HER2, EGFR, MET, FGFR2 i RAS. Ove genomske amplifikacije mogu biti ciljne terapijom koja usmjerava RTK/RAS/MAPK signalne puteve, nudeći potencijalne terapijske benefite [30].

Karcinomi želuca povezani s EBV često pokazuju specifične genetske i epigenetske karakteristike. Ovi karcinomi često pokazuju *silencing* gena CDKN2A, mutacije gena PIK3CA, prekomjernu ekspresiju PD-L1/2 i nedostatak mutacija TP53. S druge strane, karcinomi s mikrosatelitskom nestabilnošću (engl. *Microsatellite Instability*, MSI) često imaju hipermetilaciju gena MLH1 i obiluju genskim mutacijama uključujući PIK3CA, ARID1A i RTK [29].

Difuzni tipovi karcinoma želuca (genomski stabilni podtip - GS) često pokazuju mutacije gena CDH1 i RHOA ili CLDN18-ARHGAP fuzije. Intestinalni tip karcinoma želuca (podtip s kromosomskom nestabilnošću, engl. *Chromosome Instability*, CIN) često pokazuje mutacije gena TP53 i genomske amplifikacije RTK [29].

2.1. Mutacije TP53 gena

Kao tumor-supresorski gen, TP53 je uključen u više od polovice svih tumorskih slučajeva. Gen TP53, koji se može podijeliti na dva tipa: divlji tip i mutirani tip, štiti genomsku stabilnost i jedan je od gena najviše povezanih s rakom u posljednjih nekoliko godina. Gen TP53 otkriven je 1979. godine, a zbog svoje obilne ekspresije u tumorskim tkivima, ali ne i u normalnim stanicama, prvotno je klasificiran kao onkogen. Međutim, testovi provedeni 1989. godine potvrdili su da je gen TP53 u svojem divljem obliku tumor-supresorski gen [29]. Gen TP53 kodira nuklearni fosfoprotein sa 393 aminokiselinska ostatka i dobio je ime po svojoj molekularnoj težini (53 kDa). Smješten je na kratkom kraku kromosoma 17, točnije na lokaciji 17p13.1. Gen TP53 sastoji se od 11 egzona i 10 introna te se prevodi u 2,5 kb glasničke ribonukleinske kiseline (engl. *Messenger Ribonucleic Acid*, mRNA) u svim stanicama. Gen TP53 ključan je za zaustavljanje staničnog ciklusa, starenje, apoptozu, diferencijaciju i metabolizam stanice. Mutacije gena TP53 nalaze se u više od 50% tumora [31].

Kada su stanice izložene štetnim tvarima kao što je ionizirajuće zračenje, divlji tip TP53 gena se aktivira, uzrokujući zaustavljanje staničnog ciklusa u G1 fazi i time odgađajući napredovanje staničnog ciklusa. U ovom trenutku, povećava se transkripcijska aktivnost TP53 gena, što potiče aktivaciju gena p21, koji je direktna meta TP53 gena. Gen p21 suzbija aktivnost kinaza ovisnih o ciklinima, inhibirajući daljnju proliferaciju stanica. Ako dođe do promjena TP53 gena iz raznih razloga, gen gubi svoju funkciju nadzora nad stanicama, te oštećena DNA ulazi u sljedeći ciklus stanične proliferacije, što rezultira mutacijama ili kromosomskim abnormalnostima [29, 30]. Mutirani TP53 geni gube svoju inhibitornu funkciju i povećavaju sposobnost promicanja maligne transformacije, što dovodi do formiranja i napredovanja tumora. Mutacije TP53 ne samo da uzrokuju gubitak funkcije supresije tumora u nekim tumorskim stanicama, već i ubrzavaju rast i razvoj tumorskih stanica te stjecanje novih onkogenih svojstava.

Većina mutacija TP53 su *mis-sense* mutacije i delecije gena uzrokovane zamjenama pojedinačnih nukleotida, što mijenja aktivnost TP53 gena. U svom divljem obliku, TP53 gen regulira stanični ciklus, posreduje u popravku oštećenja DNA i inducira apoptozu. Mutirani p53, protein kojeg kodira TP53 gen, ne samo da gubi funkciju supresije tumora koju ima divlji tip p53, već i povećava aktivnost, invaziju i metastaziranje tumorskih stanica, pojačavajući učestalost i napredovanje tumora [32].

Više od polovice svih malignih bolesti kod ljudi uključuje inaktivaciju TP53 gena. Tumor može sadržavati nekoliko različitih mutacija, što rezultira heterogenošću statusa mutacije p53. Uobičajena genetska mutacija u karcinomu želuca je mutacija TP53 gena. Prema različitim istraživanjima, stopa mutacije TP53 gena u karcinomu želuca varira, a mutacije TP53 gena u tkivu karcinoma želuca mogu biti povezane s kliničko-patološkim aspektima kao što su stadij tumora, metastaze u limfnim čvorovima, prognostički pokazatelji kao i odgovor na terapiju. Približno 95% funkcionalnih mutacija događa se u kromosomskoj regiji koja kodira specifičnu DNA veznu domenu p53 proteina. Ove mutacije narušavaju prirodnu konformaciju kodirajuće sekvence, ubrzavaju nakupljanje oštećenja DNA u stanicama i time uzrokuju razvoj raka [33].

Intestinalna metaplazija (IM) želučane sluznice je prekancerozna lezija povezana s karcinomom želuca. Otkriveno je da se razina ekspresije p53 postepeno povećava s napredovanjem bolesti od normalne želučane sluznice do karcinoma želuca. Ovo je otkriveno detekcijom mutacija TP53 gena i ekspresijom p53 proteina u normalnoj želučanoj sluznici, IM bez karcinoma, IM s karcinomom i u samom karcinomu želuca. Studija koja je proučavala učestalost ekspresije TP53 gena u prekanceroznim lezijama jednjaka i želuca, Barrettovom jednjaku (BE) i IM, pokazale su iznimno nisku pojavnost (~2%). Međutim, mutacije su bile prisutne u visokoj incidenciji u karcinomu želuca, što sugerira da se mutacija TP53 javlja u kasnijim fazama razvoja karcinoma i pomaže u konačnoj tranziciji do raka [34].

Prema Laurenovoj klasifikaciji, karcinom želuca dijeli se na tri tipa: intestinalni tip, difuzni tip i mješoviti tip. Kao jedan od glavnih faktora rizika za karcinom želuca, smatra se da je infekcija *H. pylori* najopasnija za intestinalni tip karcinoma. Prema nekim studijama, povećana ekspresija p53 proteina pronađena je u želučanoj sluznici pacijenata zaraženih *H. pylori* koji imaju prekancerozne lezije. Najnovija istraživanja pokazuju da infekcija *H. pylori* uzrokuje upalni odgovor u želučanoj sluznici, što rezultira hipermetilacijom DNA u promotorskoj regiji gena za stimulirajući transkripcijski

faktor USF1, čime se smanjuje njegova ekspresija. Budući da USF1 surađuje s TP53 genom u održavanju genetske stabilnosti, smanjenje njegove ekspresije utječe na razine p53, prienos signala, popravak DNA i regulaciju staničnog ciklusa. Želučana sluznica zaražena *H. pylori* ima smanjenu sposobnost popravka DNA, što kompromitira genetsku stabilnost i na kraju doprinosi razvoju tumora [34].

Razumijevanje uloge TP53 mutacija otvara nove mogućnosti za razvoj ciljane terapije. Na primjer, terapije usmjerene na popravljavanje funkcije p53 proteina mogu biti potencijalno učinkovite u liječenju karcinoma želuca. Istraživanja su također usmjerena na korištenje imunoterapija koje ciljanju specifične molekularne promjene u tumorskim stanicama [35].

Najnovija saznanja o ulozi mutacije TP53 gena u karcinogenezi karcinoma želuca naglašavaju njegovu ključnu ulogu u inicijaciji i progresiji bolesti. Gubitak funkcije TP53 gena dovodi do povećanja kromosomske nestabilnosti, što je povezano s ranom fazom razvoja agresivnih svojstava karcinoma želuca. Ova kromosomska nestabilnost uzrokuje široke genetske promjene koje omogućuju tumorima da postanu maligni. Studije su pokazale da se ove genetske promjene odvijaju u specifičnom redoslijedu, što omogućuje praćenje progresije bolesti i potencijalan razvoj markera za rano otkrivanje i intervenciju [36].

Istraživanja su također otkrila da TP53 mutacije često koegzistiraju s drugim genetskim promjenama, što doprinosi kompleksnoj patologiji karcinoma želuca. Na primjer, TP53 mutacije često su povezane s mutacijama gena kao što su ARID1A, CDKN2A, i PIK3CA, dok su mutacije u BRCA1 i BRCA2 genima često međusobno isključive s TP53 mutacijama [37]. Ova genetska interakcija naglašava složenu mrežu genetskih promjena koje doprinose razvoju i progresiji karcinoma želuca. Razumijevanje uloge TP53 mutacija u karcinogenezi karcinoma želuca pruža nove mogućnosti za personaliziranu medicinu i ciljane terapije. Identifikacija specifičnih genetskih putanja može pomoći u razvoju preventivnih i terapijskih strategija koje ciljaju rane faze tumorskog napredovanja, što bi moglo značajno poboljšati ishode za pacijente s karcinomom želuca.

2.2. Mutacije *CDH1* gena

CDH1, također poznat kao kalcij-ovisna molekula za staničnu adheziju, je tumorsupresorski gen lociran na kromosomu 16q22.1. Ovaj gen proizvodi 4,5 kb mRNA iz 16 egzona i kodira za epitelni kadherin (E-kadherin), protein koji je ključan za međustaničnu adheziju, održavanje strukture epitela, stanični polaritet, diferencijaciju i regulaciju unutarstaničnih signalnih puteva. E-kadherin se sastoji od tri dijela: ekstracelularnog peptida, transmembranske regije i intracelularnog peptida [29]. Sekvenca HAV omogućuje međustaničnu adheziju, dok intracelularni peptidni segment povezuje aktinske filamente citoskeleta putem raznih veznih proteina kao što su katenin i p120, osiguravajući strukturalne karakteristike stanica koje reguliraju stanične signale. E-kadherin ima ključnu ulogu u održavanju integriteta oblika i funkcije epitelnih tkiva te u sprječavanju invazije i metastaziranja tumorskih stanica. Smanjena stanična adhezija pospješuje migraciju tumorskih stanica i predstavlja jedan od glavnih faktora koji doprinose razvoju i progresiji tumora [37]. Mutacije gena CDH1 i gubitak njegove funkcije mogu dovesti do difuznog karcinoma želuca (engl. *Diffuse Gastric Cancer*, DGC), pri čemu mutacije CDH1 mogu poslužiti kao neovisni prognostički faktori. Inaktivacija E-kadherina povezana je sa somatskim mutacijama gena CDH1, metilacijom promotora, prekomjernom ekspresijom transkripcijskih supresora i heterozigotnim delecijama u DGC. Osobe sa sporadičnim ili nasljednim mutacijama gena CDH1 imaju povećan rizik za razvoj DGC. Učestalost mutacija CDH1 gena u sporadičnim slučajevima DGC iznosi oko 25%, dok u nasljednim slučajevima (HDGC) može doseći i do 50%. Istraživanje Liu i suradnika pokazalo je da mutacije u 32 gena, uključujući TP53, SPEN, FAT1 i CDH1, prelaze 10% u DGC-u [38].

Osim toga, mutacije gena CDH1 značajno su povezane s DGC. Germinativne mutacije CDH1 utječu na cijelu kodirajuću sekvencu kao i na funkcionalne domene proteina. Najčešće mutacije su kratke insercije i delecije, koje čine oko 35% svih mutacija. Ostali tipovi mutacija uključuju *missense* mutacije (28%), *nonsense* mutacije (16%), varijacije na mjestu spajanja (16%) i značajne egzonske delecije (5%) [38].

Istraživanja pokazuju da su mutacije gena CDH1 povezane s lošom prognozom kod nasljednog difuznog karcinoma želuca (engl. *Hereditary Diffuse Gastric Cancer*, HDGC). Prema Moslim i sur. pacijenti s HDGC-om koji nisu imali otkrivene mutacije CDH1 prije operacije imali su veću vjerojatnost za razvoj metastaza i smrtni ishod u usporedbi s onima s poznatim statusom mutacije. To sugerira da genetsko savjetovanje i testiranje na mutacije CDH1 može poboljšati stopu preživljavanja

pacijenata s rakom želuca, posebno onih s difuznim karcinomom želuca. Muškarci s mutacijama CDH1 imaju rizik od 70% za razvoj raka želuca do dobi od 80 godina, dok žene imaju rizik od 56% [39].

Međunarodna udruga za rak želuca razvila je kriterije za testiranje mutacija gena CDH1 na temelju sljedećih uvjeta: (1) Bilo koja dob s 2-3 slučaja raka želuca u prvim ili drugim srodnicima, uključujući barem jedan slučaj DGC-a; (2) Bez obiteljske povijesti, ali dijagnosticiran DGC prije dobi od 40 godina; (3) Obiteljska povijest i slučajevi DGC-a ili lobularnog raka dojke, uzimajući u obzir dob; i (4) Obiteljska povijest i slučajevi difuznog karcinoma želuca [40]. Osobe koje zadovoljavaju ove kriterije trebale bi se testirati na mutacije gena CDH1 [41]. Ove smjernice imaju osjetljivost od 0.79-0.89, specifičnost od 0.70, pozitivnu prediktivnu vrijednost od 0.14-0.19 i negativnu prediktivnu vrijednost od 0.97.

2.3. Mutacije *PIK3CA* gena

Mutacije gena *PIK3CA* su među najčešće proučavanim genetskim promjenama u kontekstu karcinogeneze karcinoma želuca. Ove mutacije često rezultiraju aktivacijom PI3K/AKT signalnog puta, koji je ključan za regulaciju staničnog rasta, proliferacije i preživljavanja. *PIK3CA* gen kodira p110 α katalitičku podjedinicu fosfatidilinozitol-3-kinaze (engl. *Phosphatidil-inositol-3-kinase*, PI3K), a mutacije u ovom genu mogu dovesti do konstante aktivacije PI3K, što može potaknuti nekontrolirani rast stanica i doprinijeti razvoju karcinoma [42].

Mutacije *PIK3CA* gena javljaju se u različitoj frekvenciji kod pacijenata s karcinomom želuca. Studije su pokazale da se mutacije *PIK3CA* mogu naći u 4-25% slučajeva karcinoma želuca [41]. Najčešće mutacije uključuju zamjene aminokiselina koje se nalaze u heličnoj i kinaznoj domeni proteina [43]. Mutacije u *PIK3CA* genu često dovode do hiperaktivacije PI3K/AKT puta, što rezultira povećanom staničnom proliferacijom, smanjenom apoptozom i povećanom invazivnošću tumorskih stanica. Aktivacija ovog signalnog puta može također doprinijeti otpornosti na određene terapije, uključujući kemoterapiju i terapiju usmjerenu na EGFR.

Studije o prognostičkoj vrijednosti PIK3CA mutacija u karcinomu želuca su donekle kontradiktorne. Dok neke studije ukazuju na to da su ove mutacije povezane sa lošijom prognozom zbog povećane agresivnosti tumora, druge sugeriraju da prisustvo PIK3CA mutacija može biti povezano s boljim ukupnim preživljavanjem kod određenih podskupina pacijenata, naročito onih s niskom prevalencijom ovih mutacija. Meta-analize su pokazale da su mutacije PIK3CA često povezane s naprednijom T-fazom u tumorskoj TNM klasifikaciji, lošom diferencijacijom tumora i statusom mikrosatelitske nestabilnosti (MSI, od engl. microsatellite instability) . Tumori s MSI često pokazuju različite biološke karakteristike, što može utjecati na odgovor na terapiju i ukupni ishod bolesti [36].

Identifikacija mutacija PIK3CA može imati važne implikacije za personalizaciju terapije. Inhibitori PI3K su razvijeni i testiraju se u kliničkim ispitivanjima kao potencijalne terapijske opcije za pacijente s PIK3CA-mutiranim tumorima [44]. Međutim, otpornost na PI3K inhibitore može se pojaviti zbog različitih mehanizama, uključujući dodatne mutacije u samom PI3K putu ili u drugim povezanim signalnim putevima.

3. EPIGENETSKE PROMJENE U KARCINOGENEZI KARCINOMA ŽELUCA

DNA metilacija u promotorskim regijama gena je ključni epigenetski mehanizam koji vodi do utišavanja tumor-supresorskih gena, čime se omogućuje nekontrolirani rast stanica i razvoj tumora. Različite razine metilacije DNA omogućile su klasifikaciju karcinoma želuca u tri glavna epigenotipa. Prvi epigenotip je ekstremno visokometilirajući epigenotip (engl. *Extremely-high epigenotype*, E-HME), koji je specifičan za karcinome povezane s Epstein-Barr virusom. Ovi karcinomi pokazuju značajnu hipermetilaciju mnogih gena, uključujući CDKN2A [45]. Drugi epigenotip je visokometilirajući epigenotip (engl. *High methylation epigenotype*, HME), često povezan s mikrosatelitskom nestabilnošću i uključuje hipermetilaciju gena MLH1, čija je uloga održavanje stabilnosti genoma u staničnom ciklusu i ispravljanje grešaka u DNA. Treći epigenotip je nisko-metilirajući epigenotip (engl. *Low methylation epigenotype*, LME), koji pokazuje najmanje promjena u metilaciji u usporedbi s prethodna dva epigenotipa [45].

3.1. Metilacija DNA

Metilacija DNA je rasprostranjen oblik epigenetske promjene. Ona se odvija na citozinu unutar CpG dinukleotida, čime nastaje 5-metilcitozin. CpG otoci smješteni u promotorskim regijama obično nisu metilirani, a ekspresija gena kontrolira se kroz modifikacije histona. Međutim, abnormalna metilacija ovih promotorskih CpG otoka može dovesti do transkripcijskog silencinga, što utječe na gensku ekspresiju. Ovo utišavanje transkripcije, posebice u tumor-supresorskih gena, predstavlja značajan mehanizam u razvoju raka. Razina metilacije DNA pod utjecajem je okolišnih faktora. Istraživanja su pokazala da starenje i pušenje doprinose nakupljanju abnormalne metilacije u CpG otocima [46].

Kronična upala također ubrzava ovaj proces u nekanceroznim tkivima. Stanja poput ulceroznog kolitisa, kroničnog hepatitisa i refluksnog ezofagitisa uzrokuju upalu, koja zauzvrat dovodi do abnormalne metilacije CpG otoka [46]. Ova abnormalna metilacija u nekanceroznim tkivima povezana je s karcinogenezom. Na primjer, studije koje

koriste model mišjeg kolitisa induciranog dekstran natrijevim sulfatom pokazale su da se metilacija DNA nakuplja u sluznici debelog crijeva [47].

Infekcija *H. pylori* dovodi do abnormalne metilacije promotora, što utišava tumor supresorske gene poput RUNX3, LOX i CDH1. Istraživanja sugeriraju da kronična upala uzrokovana *H. pylori*, a ne sama bakterija, inducira abnormalnu metilaciju DNA. Međutim, studija provedena na mongolskim gerbilima podržava ideju da i *H. pylori* infekcija i posljedična abnormalna metilacija u želučanoj sluznici doprinose razvoju raka želuca povezanog s *H. pylori* [48].

Rak želuca može se klasificirati u podskupine na temelju abnormalnih uzoraka metilacije DNA: E-HME, HME i LME. E-HME se specifično nalazi u slučajevima raka želuca povezanog s Epstein-Barr virusom i karakteriziraju ga jedinstveno metilirani geni, poput CDKN2, koji ostaju nemetilirani u drugim podskupinama. Sveobuhvatna analiza metilacije DNA u raku želuca identificirala je tri podtipa marker gena za svaki epigenotip. EBV markeri su specifično metilirani samo u E-HME podtipu [48]. Visoki markeri su metilirani u oba, E-HME i HME, ali ostaju nemetilirani u LME. Zajednički markeri su metilirani u svim epigenotipovima, ali su nemetilirani u normalnoj želučanoj sluznici.

Učestalost genetskih aberacija varira među različitim epigenotipovima. Podtip E-HME je jedinstveno povezan s EBV-pozitivnim rakovima želuca. Histološki, EBV-pozitivni želučani karcinom obično se manifestira kao slabo diferencirani karcinom s gustom infiltracijom limfocita, poznat kao želučani karcinom s limfoidnom stromom. Ovi želučani karcinomi često pokazuju utišavanje CDKN2A zbog metilacije DNA, zajedno s mutacijama PIK3CA, prekomjernom ekspresijom PD-L1/2 i odsutnošću TP53 mutacija [49].

Podtip HME karakteriziran je nestabilnošću mikrosatelita. Često pokazuje utišavanje MLH1 kroz metilaciju DNA. Njegov podtip, MSI (engl. microsatellite instability), nema ciljane amplifikacije, bogat je mutacijama gena, uključujući PIK3CA, ARID1A i receptorske tirozinske kinaze. Dodatno, često sadrži mutacije u genima glavnog kompleksa histokompatibilnosti klase I, poput B2M i HLA-B, što može poboljšati imunološki odgovor u hipermutiranim želučanim karcinomima [49].

Podtip LME uključuje genomsku stabilnost (GS) i podtipove kromosomske nestabilnosti (engl. *Chromosome instability*, CIN). Podtip GS je obično difuzan i često

sadrži fuzije gena CLDN18-ARHGAP ili mutacije CDH1/RHOA. Nasuprot tome, podtip CIN, karakteriziran genomskom amplifikacijom RTK-a, općenito je intestinalnog tipa i često pokazuje TP53 mutacije [49].

3.2. Modifikacije histona (metilacija i acetilacija)

Histonska metilacija uključuje prijenos metilnih grupa na lizinske (K) i argininske (R) ostatke histona H3 ili H4, što kataliziraju enzimi poznati kao histonske metiltransferaze (KMT) ili argininske metiltransferaze (PRMT). U kontekstu karcinoma želuca, specifični obrasci metilacije histona mogu dovesti do promjena u ekspresiji gena, što može potaknuti tumorigenezu [50]. Na primjer, abnormalna metilacija H3K9 i H3K27 često je povezana s represijom gena koji su važni za supresiju tumora i promociju metastaza. Jedna od ključnih metilacija u karcinogenezi želuca je metilacija H3K27, koja je često posredovana enzimom EZH2. Ovaj enzim može biti dereguliran u različitim vrstama karcinoma, uključujući karcinom želuca, što vodi do promjena u ekspresiji gena i progresiji tumora. DNMT3A izoforma b, na primjer, doprinosi EMT-posredovanoj metastazi smanjenjem ekspresije E-kadherina [50].

Histonska acetilacija je proces kojim se acetilne grupe dodaju aminokiselini lizin na histonima, čime se povećava pristupačnost kromatina za transkripciju. Acetilacija histona regulirana je enzimskom aktivnošću histonskih acetiltransferaza (HAT) i histonskim deacetilazama (HDAC). U karcinomu želuca, promjene u acetilaciji histona mogu dovesti do deregulacije gena povezanih s karcinogenezom [51].

Na primjer, HDAC1 može katalizirati deacetilaciju H3K27 na promotoru gena STAT1, što stvara imunosupresivno okruženje. Infekcija *H. pylori* koja je ključni čimbenik rizika za razvoj karcinoma želuca, također utječe na modifikacije histona. Na primjer, infekcija *H. pylori* može povećati ekspresiju p21 WAP1/CIP1 promovirajući acetilaciju histona H4 u promotorskoj regiji [51].

Metilacija histona je složen proces koji može utjecati na različite aspekte stanične funkcije i stabilnosti genoma. Metilacija specifičnih lizinskih ili argininskih ostataka može rezultirati aktivacijom ili represijom gena, ovisno o mjestu metilacije i specifičnom histonskom modifikatoru koji sudjeluje. U kontekstu karcinoma želuca, metilacija H3K9

i H3K27 često je povezana s represijom gena koji igraju ključne uloge u kontroli staničnog ciklusa i apoptotičkih puteva, što omogućava nekontroliranu proliferaciju stanica i metastaziranje [52].

Jedna od glavnih metiltransferaza uključenih u ovu regulaciju je EZH2, koja katalizira metilaciju H3K27. Deregulacija EZH2, bilo kroz povećanu ekspresiju ili mutacije koje pojačavaju njezinu aktivnost, često je povezana s napredovanjem tumora i lošijom prognozom za pacijente [53].

Povećana razina H3K27me3 može rezultirati utišanjem genetskog odgovora za tumorsku supresiju, dok smanjena metilacija na drugim mjestima, poput H3K4, može dodatno potaknuti onkogene aktivnosti. Također, mutacije u DNMT3A, koje su često prisutne u karcinomu želuca, mogu „suradivati“ s histonskim modifikacijama te promijeniti ekspresiju ključnih gena za metastaziranje i invaziju tumorskih stanica. Interakcije između metilacije i acetilacije histona dodatno kompliciraju njihovu ulogu u karcinogenezi [53]. DNMT-ovi, enzimi koji posreduju metilaciju DNA, također mogu biti regrutirani histonskim modifikacijama. Na primjer, DNMT3B je regrutiran od strane H3K36me3 i utječe na metilaciju gena u karcinomu želuca. Ove kombinacije histonskih modifikacija, zajedno s promjenama u DNA metilaciji, mogu stvoriti epigenetski profil koji pospješuje razvoj i progresiju karcinoma želuca [53].

Acetilacija histona, posredovana HAT-ovima i HDAC-ovima igra važnu ulogu u regulaciji pristupačnosti kromatina i transkripciji gena. Povećana acetilacija histona obično je povezana s aktivacijom gena jer neutralizira pozitivni naboj lizina, smanjujući tako afinitet histona prema negativno nabijenoj DNA, što rezultira lakšim pristupom transkripcijskim faktorima [54].

U karcinomu želuca, deregulacija HDAC aktivnosti može dovesti do represije gena za supresiju tumora i aktivacije onkogeno. Na primjer, HDAC1 može smanjiti acetilaciju H3K27 na promotoru STAT1, stvarajući imunosupresivno okruženje koje pogoduje tumorskoj progresiji. Infekcija *H. pylori* dodatno komplicira ovaj proces, promičući specifične promjene u acetilaciji histona koje mogu doprinijeti razvoju karcinoma želuca [55].

H. pylori infekcija može inducirati povećanu acetilaciju H4 na promotoru p21, gena koji djeluje kao tumorski supresor, dok istovremeno može uzrokovati hipometilaciju drugih kritičnih promotorskih regija. Takva epigenetska plastičnost govori u prilog

prilagodljivosti stanica kako bi odgovorile na okolišne promjene i terapijske intervencije. S obzirom na međusobno djelovanje metilacije i acetilacije histona, kao i njihovu zajedničku ulogu u regulaciji ekspresije gena, kombinirane terapijske strategije koje ciljaju obje vrste modifikacija mogu biti iznimno efektivne [55].

Na primjer, inhibitori DNMT-a, kao što su azacitidin i decitabin, mogu se kombinirati s HDAC inhibitorima kako bi se postigla sinergistička antitumorska aktivnost. Takvi pristupi mogu omogućiti reaktivaciju potisnutih tumor-supresorskih gena i istodobno smanjiti ekspresiju onkogenih gena [55].

4. ULOGA SIGNALNIH PUTEVA U KARCINOGENEZI KARCINOMA ŽELUCA

Signalni putevi su važni u karcinogenezi karcinoma želuca budući da sudjeluju u različitim staničnim procesima kao što su proliferacija, diferencijacija, apoptoza i angiogeneza. Disregulacija signalnih puteva može dovesti do nekontroliranog rasta stanica, sprječavanja programirane stanične smrti i promocije invazije tumorskih stanica. Postoji mnogo signalnih puteva odgovornih za navedene procese u okviru karcinogeneze karcinoma želuca, međutim, u zadnjih nekoliko godina istraživanja prednjače u području Notch, Wnt/beta- kateninskog te Hedgehog signalnog puta o kojima će se u ovom dijelu rada raspravljati. Interakcije među ovim putevima čine složenu mrežu koja potiče progresiju tumora, prilagodbu na stresne uvjete i otpornost na terapiju. S obzirom na njihovu ulogu, signalni putevi predstavljaju važne terapijske ciljeve za razvoj budućih tretmana za pacijente s karcinomom želuca.

4.1. Wnt/beta kateninski put

Wnt/beta-kateninski signalni put igra ključnu ulogu u karcinogenezi karcinoma želuca. Ovaj signalni put je visoko očuvan među različitim vrstama i uključen je u mnoge stanične procese kao što su proliferacija, diferencijacija, migracija, adhezija stanica i apoptoza. U kontekstu karcinoma želuca, poremećaj ovog puta može rezultirati abnormalnom proliferacijom stanica i razvojem tumora [56].

Kanonski (engl. canonical) Wnt signalni put započinje kada Wnt ligandi vežu na svoje receptore, Frizzled receptor (Fz) i koreceptore proteina povezanih s lipoproteinima niske gustoće 5 i 6 (LRP5/6) na površini stanica. Ova interakcija aktivira protein Dishevelled (Dvl) koji inhibira formiranje kompleksa za degradaciju beta-katenina. U normalnim uvjetima, beta-katenin je vezan za kompleks koji uključuje proteine Axin, APC (*adenomatozna polipoza kolona*), GSK3 β (*kinaza glikogen sintetaze 3 beta*) i CK1 (*kazeinska kinaza 1*), koji fosforilira beta-katenin označavajući ga za degradaciju putem ubikvitin-proteasomskog sustava [56].

Aktivacija Wnt signalnog puta sprječava ovu fosforilaciju, omogućujući beta-kateninu da se akumulira u citoplazmi i translocira u jezgru gdje djeluje kao transkripcijski

koaktivator za TCF/LEF (od engl. T-cell factor/Lymphoid enhancer-binding factor) transkripcijske faktore, potičući ekspresiju ciljnih gena poput c-Myc i cyclin D1, koji su važni za staničnu proliferaciju i preživljavanje [56].

Aberantna aktivacija Wnt/beta-kateninskog signalnog puta često je prisutna u karcinomu želuca. Studije su pokazale da su mutacije u genima CTNNB1 (od engl. Catenin Beta 1), koji kodira beta-katenin i APC uobičajene u ovim tumorima [56]. Te mutacije dovode do stabilizacije beta-katenina i njegove akumulacije u jezgri, čiji je rezultat kontinuirana aktivacija ciljnih gena Wnt puta, potičući neograničenu proliferaciju stanica i tumorigenezu.

Osim genetičkih mutacija, epigenetske modifikacije također igraju važnu ulogu u aktivaciji Wnt/beta-kateninskog puta u karcinomu želuca. Hipermetilacija promotora gena koji djeluju kao inhibitori Wnt puta, kao što su APC, sFRP (*sekretirani Frizzled-srodni protein*), i DKK (*Dickkopf*) često se viđa u karcinomu želuca. Ove promjene dovode do smanjenja ekspresije tih inhibitora, čime se omogućava nekontrolirana aktivacija Wnt/beta-kateninskog signalnog puta [57].

Wnt/beta-kateninski put također doprinosi metastatskom potencijalu karcinoma želuca. Aktivacija ovog puta povezana je s epitelno-mezenhimalnom tranzicijom (EMT), procesom kojim epitelne stanice gube svoje adhezivne osobine i stječu migracijski i invazivni fenotip [56-58]. Wnt-5a, ne-kanonički ligand Wnt puta, stimulira migraciju i invaziju stanica karcinoma želuca putem regulacije kompleksa fokalne adhezije, što dodatno doprinosi progresiji tumora i povećanju metastatskog potencijala [58].

Zbog ključne uloge Wnt/beta-kateninskog puta u karcinogenezi karcinoma želuca, postoji značajan interes za razvoj terapija koje ciljaju komponente ovog signalnog puta. Inhibitori Wnt signalnog puta, kao što su salinomycin i AKBA (acetil-11-keto-beta-bosvelična kiselina), pokazali su potencijal u inhibiranju rasta tumora i smanjenju populacije stanica karcinoma želuca koje imaju svojstva slična matičnim stanicama raka [59]. Ove supstance djeluju putem različitih mehanizama uključujući degradaciju koreceptora LRP6, inhibiciju beta-kateninske signalizacije i indukciju apoptoze.

MikroRNA (miRNA) su kratke nekodirajuće RNA molekule koje reguliraju ekspresiju gena na post-transkripcijskom nivou, što dovodi do degradacije mRNA ili inhibicije

translacije. Uloga miRNA u regulaciji Wnt/beta-kateninskog signalnog puta značajna je u kontekstu karcinoma želuca [58].

Istraživanja su pokazala da određene miRNA mogu djelovati kao onkogeni ili tumor supresori, te njihova disregulacija može doprinijeti procesu karcinogeneze. Nekoliko miRNA su identificirane kao ključni regulatori Wnt/beta-kateninskog puta u karcinomu želuca. Na primjer, miR-17-92 klaster promovira samoodržavanje matičnih stanica karcinoma želuca (GCSC) ciljanjem gena E2F1 (gen koji kodira transkripcijski faktor E2F1) i HIPK1 (engl. Homeodomain-interacting protein kinase 1), koji su poznati inhibitori Wnt/beta-kateninskog signalnog puta. Kao rezultat toga, aktivacija ovog miRNA klastera rezultira aktivacijom Wnt/beta-kateninskog signalnog puta, što doprinosi održavanju populacije GCSC i progresiji tumora [60].

Drugi primjer je miR-27, koji djeluje kao modulator Wnt signalnog puta interakcijom s APC genom i promicanjem metastaza karcinoma želuca putem indukcije epitelno-mezenhimalne tranzicije. S druge strane, miR-200a pokazuje sposobnost supresije Wnt/beta-kateninskog puta ciljanjem gena CTNNB1, ZEB1 i ZEB2 (od engl. Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 1/2), što dovodi do povećane ekspresije E-kadherina i inhibicije invazivnosti stanica karcinoma želuca [58].

Infekcija *H. pylori* ključni je čimbenik rizika za razvoj karcinoma želuca. *H. pylori* može inducirati aktivaciju Wnt/beta-kateninskog signalnog puta putem različitih mehanizama. Na primjer, CagA protein, virulentni čimbenik *H. pylori*, može se translocirati u stanice domaćina gdje se veže na E-kadherin, prekidajući kompleks E-kadherin/beta-katenin. Beta-katenin se tada akumulira u jezgri i citoplazmi, što dovodi do aktivacije ciljanih gena uključenih u staničnu proliferaciju i diferencijaciju [58].

Drugi virulentni faktor *H. pylori*, VacA, može inducirati Wnt/beta-kateninski signalni put putem aktivacije PI3K/Akt puta, što rezultira fosforilacijom i inhibicijom GSK3 β , te translokacijom beta-katenina u jezgru. Ovi mehanizmi doprinose patološkim promjenama koje vode do karcinogeneze želuca [58].

Zbog značaja Wnt/beta-kateninskog signalnog puta u karcinogenezi karcinoma želuca, postoji veliki interes za razvoj terapija koje ciljaju ovaj put. Inhibitori Wnt signalnog puta, kao što su salinomycin i AKBA, pokazali su potencijal u inhibiciji rasta tumora i smanjenju populacije GCSC [58].

Salinomycin je antibakterijski kalijev ionofor koji selektivno inhibira Wnt/beta-kateninski signalni put inducirajući degradaciju LRP6 koreptora. AKBA, aktivna komponenta smole *Boswellia serrata*, inhibira rast ljudskog karcinoma želuca inducirajući apoptozu i modulirajući Wnt/beta-kateninski signalni put [61].

Prirodni proizvodi koji reguliraju Wnt/beta-kateninski signalni put također su pokazali antitumorski učinak. Na primjer, γ -tokotrienol, flavanon i difilin inhibiraju ovaj signalni put i smanjuju ekspresiju njegovih ciljanih gena [61].

4.2. Hedgehog signalni put

Signalni put Hedgehog (HH) ima ključnu ulogu u karcinogenezi karcinoma želuca, a njegova aberantna aktivacija povezana je s rastom tumora, imunološkom tolerancijom i otpornosti na lijekove. Uloga HH signalnog puta u razvoju karcinoma želuca može se sagledati kroz nekoliko glavnih aspekata. HH signalizacija igra značajnu ulogu u održavanju i proliferaciji stanica raka. Aberantna aktivacija HH signalnog puta rezultira nekontroliranim rastom tumorskih stanica [62, 63]. Sonic Hedgehog (SHH) ligand, Smoothed (SMO) receptor i glioma-associated oncogene (GLI1) transkripcijski faktori su ključne komponente ovog signalnog puta. U karcinomu želuca, SHH i GLI1 su često prekomjerno ekspimirani, što dovodi do povećane proliferacije tumorskih stanica [64].

HH signalni put doprinosi stvaranju imunosupresivne tumorske mikrookoline (engl. *tumor micro-environment*, TME). HH signalizacija regulira ekspresiju imunoloških kontrolnih točaka kao što je PD-L1, koji pomaže tumorskim stanicama da izbjegnu imunološki nadzor. Na primjer, pokazano je da tijekom infekcije *Helicobacter pylori*, bakterija inducira ekspresiju PD-L1 na epitelnih stanicama želuca, a ovaj proces je ovisan o HH signalnom putu, što sugerira interakciju između HH signalizacije i imunoloških kontrolnih točaka tijekom razvoja tumora. Nadalje, HH signalni put igra ulogu u održavanju stanica raka sa svojstvima matičnih stanica (CSC) [65]. CSC su podskupina tumorskih stanica koje imaju sposobnost samoobnavljanja i stvaranja heterogene mase tumorskih stanica, što ih čini vrlo otpornima na terapiju i pogodnim za relaps tumora. Aberantna aktivacija HH signalizacije je kritična za održavanje CSC u gastrointestinalnim karcinomima. Na primjer, GLI1 aktivacija putem integrin

avb3/ERK1/2 puta je ključna za održavanje fenotipa sličnog matičnim stanicama u karcinomu želuca [66].

HH signalni put doprinosi rezistenciji na lijekove u karcinomu želuca. Tumorske stanice koje su otporne na kemoterapiju često pokazuju aktivaciju HH signalizacije. Na primjer, pokazano je da aktivacija GLI2-ABCG2 signalne osi doprinosi rezistenciji na 5-fluorouracil (5-FU) u karcinomu želuca [67]. Inhibicija HH signalizacije stoga predstavlja potencijalnu terapijsku strategiju za prevladavanje otpornosti na lijekove i poboljšanje učinkovitosti postojećih terapija. U kontekstu terapijskih intervencija, inhibicija HH signalizacije predstavlja obećavajuću strategiju za liječenje karcinoma želuca. Različiti inhibitori, poput vismodegiba, sonidegiba i drugih, istražuju se za njihovu učinkovitost u ciljanju HH signalnog puta u gastrointestinalnim tumorima. Primjerice vismodegib pokazuje antitumorski učinak smanjujući proliferaciju fibroblasta povezanih s rakom (CAF) i modulirajući TME [67]. Ove spoznaje naglašavaju potencijal HH signalizacije kao cilja za terapijske intervencije u liječenju karcinoma želuca.

4.3. Notch signalni put

Notch signalni put, evolucijski očuvani signalni sustav, ima ključnu ulogu u progresiji različitih vrsta karcinoma. Tijekom proteklih desetljeća, sve više je pokazano da Notch signalni put ima primarnu ulogu u odlučivanju sudbine karcinomskih stanica i stanica karcinomskih matičnih stanica u želucu. Većina komponenti Notch signalnog puta izražava se na različitim razinama u tkivima karcinoma želuca i povezuje se s brojnim kliničkim ishodima. Notch signalni put pokazuje interakciju s Wnt, Ras i NF- κ B signalnim putevima te na taj način potiče proces karcinogeneze želuca. Posljedično, to povećava proliferaciju i sprječava apoptozu stanica karcinoma želuca, doprinosi indukciji angiogeneze i ubrzava proces epitelnog-mesenhimalnog prijelaza [68].

Iako je Notch signalni put jedan od novih terapijskih ciljeva za liječenje karcinoma, još uvijek postoji nedostatak dubljeg razumijevanja molekularnih mehanizama Notch signalnog puta u karcinomu želuca. Notch ligandi kod sisavaca nazivaju se Delta-like ligandi (DII1, DII3 i DII4) i Serrate-like ligandi (Jagged1 i Jagged2), budući da su svojom strukturom homologni s Delta i Serrate ligandima zapaženih u vinske mušice (lat. *Drosophila melanogaster*) [69].

Postoje četiri Notch receptora (Notch1, Notch2, Notch3 i Notch4) od kojih su svi tip I transmembranski proteini [70].

Notch signalni put kompleksan je niz događaja koji se ugrubo sastoji od faza proteolitičkog cijepanja i endocitoze receptora kako bi se potaknuo signalni put. Notch intracelularna domena (NICD) nastaje kao produkt proteolitičkog cijepanja. NICD ulazi u staničnu jezgru, a potom djeluje kao transkripcijski aktivator. Aktivacija Notch-a u želucu pretvara epitelne stanice u matične i/ili multipotencijalne progenitorske stanice, što vodi do stvaranja displastičnih adenoma [70].

Uzorkovanje tkiva pokazuje da su Notch1, Notch3, Jagged1, Jagged2 i Hes1 izraženi prvenstveno u istmusu želučane sluznice te su značajno manje izraženi u normalnom želučanom tkivu u usporedbi s tkivima karcinoma želuca. Povećana ekspresija Notch1 značajno je povezana s volumenom tumora, stupnjem diferencijacije, dubinom invazije i vaskularnom invazijom [68].

Notch signalni put ima kompleksne interakcije s Wnt signalnim putem, Ras/MAPK signalnim putem i NF- κ B signalnim putem. Na primjer, Notch signalni put može aktivirati Wnt signalizaciju povećanjem ekspresije Frizzled receptora. U međuvremenu, aktivirani NICD Notch1 receptora može povećati ekspresiju interferona- γ (IFN- γ) u perifernim T stanicama aktiviranjem NF- κ B [71].

Dublje razumijevanje Notch signalnog puta i njegove interakcije s drugim signalnim putevima pruža nove mogućnosti za dizajn novih terapijskih strategija. Terapijske intervencije mogu uključivati blokadu vezanja receptora i liganda, inhibiciju produkcije NICD te ciljanje ko-aktivatorskog kompleksa. Blokada Notch signalnog puta može se postići korištenjem monoklonalnih antitijela koja se specifično vežu za DLL4, inhibirajući tako Notch signalizaciju u endotelnim stanicama, čime se smanjuje angiogeneza i rast tumora. MicroRNA (miRNA) također je našla primjenu u regulaciji Notch signalizacije. Njen je krajnji terapijski učinak inhibicija proliferacije, migracije i invazije stanica karcinoma želuca [69].

Hes1 je najčešće aktivirani ciljni gen Notch signalizacije, te također ima ključnu funkciju u odlučivanju o širokom rasponu staničnih procesa. Važno je napomenuti da je Hes1 uključen u zaustavljanje ciklusa hematopoetskih matičnih i progenitornih stanica. Kako je ranije spomenuto, Notch signalizacija pridonosi održavanju matičnih stanica karcinoma želuca, što može biti povezano s ekspresijom Hes1. Slični rezultati mogu

se vidjeti kod kolorektalnih i pankreasnih karcinoma. Na temelju ovih studija, inhibicija Hes1 može biti obećavajući način za smanjenje „stemnosti“ stanica karcinoma želuca [69].

Inhibicija proteolitičkog cijepanja Notch receptora može se postići korištenjem γ -sekretaznih inhibitora (GSI), kao što je dibenzazepin (DBZ), što rezultira smanjenjem aktivnosti γ -sekretaze i inhibicijom aktivacije Notch sustava. Inhibitori kao što su RECK (engl. Reversion Inducing Cysteine-Rich Protein with Kazal Motifs) mogu smanjiti cijepanje Notch1 receptora, što dodatno inhibira ekspresiju markera „stemnosti“ i suzbija karakteristike stanica koje nalikuju onima kod matičnih stanicama karcinoma želuca [70].

Iako je Notch signalizacija u karcinomima želuca privukla veliku pažnju, još uvijek postoje određena pitanja koja treba riješiti. Prvo, nekoliko molekularnih inhibitora Notch signalizacije nije specifično samo za Notch. Na primjer, GSK-3 kinaze (od engl. glycogen synthase kinase), kao što je GSK-3 α , imaju širok raspon proteinskih ciljeva, od kojih je samo jedan Notch1. Drugo, glavni nedostatak upotrebe GSI spojeva kao terapijskog sredstva su komplikacije vezane uz toksičnost probavni sustav [71].

Od kada je otkriven "Notch", prošlo je gotovo sto godina, a brojna istraživanja su otkrila patogene mehanizme Notch signalizacije u različitim kontekstima. Iako inhibicija Notch aktivnosti nije sposobna u potpunosti suzbiti učinke karcinoma želuca, ekspresija Notch komponenti i aktivirani Notch sustav i dalje odražavaju potencijalno ozbiljan rizik od karcinoma želuca. Zbog velike važnosti GCSC-ova (matične stanice karcinoma želuca) u inicijaciji karcinoma, recidivu, otpornosti na lijekove i metastazama, kao i ključne funkcije Notch-a u kontroli GCSC-ova, postoji hitna potreba za razvojem učinkovite terapije protiv karcinoma želuca ciljanjem Notch-a, posebice uzevši u obzir da su GSI-evi primaran oblik terapije koji targetira Notch signalni put. Kako je već spomenuto, ovi lijekovi imaju širok raspon ciljeva osim Notch-a i jednako tako širok spektar ozbiljnih nuspojava. Razvoj miRNA silencinga i polipeptidnih lijekova u budućnosti može pružiti precizniju terapijsku metodu za ciljanje dominantnih efektorskih gena [72-74]. Notch signalizacija djeluje kao onkogeni pojačivač s nekoliko terapijskih ciljanih mjesta u karcinomu želuca. Daljnja *in vitro* i *in vivo* istraživanja su još uvijek potrebna kako bi se potvrdilo mogu li se strategije ciljanog Notch puta primijeniti na kliničko liječenje s manje nuspojava, manjom otpornosti na lijekove i većom selektivnošću.

5. ULOGA MIKROOKOLINE U KARCINOGENEZI KARCINOMA ŽELUCA

Tumorska mikrookolina (engl. Tumor microenvironment, TME) je važna stavka u karcinogenezi karcinoma želuca. Kronična upala, često uzrokovana infekcijom bakterijom *H. pylori*, može dovesti do oštećenja stanica i genetskih mutacija koje potiču razvoj raka. Jednako tako, tumorski mikrookoliš može modulirati imunološki odgovor, suprimirajući njegovu akciju, što omogućuje tumorskim stanicama izbjegavanje imunološkog nadzora i nesmetan rast. Mikrookolina također utječe na metabolizam tumorskih stanica, omogućujući im preživljavanje u uvjetima hipoksije i manjka hranjivih tvari te omogućuje međustaničnu komunikaciju koja potiče tumorski rast i invaziju i otpornost na terapiju [75]. Razumijevanje ovih procesa može pružiti nove terapijske mete i strategije za liječenje karcinoma želuca.

5.1. Uloga mikrobioma

Mikrobiom, posebno bakterijski sastav želuca, može direktno i indirektno utjecati na razvoj karcinoma želuca. Infekcija bakterijom *H. pylori* jedan je od najpoznatijih čimbenika rizika, jer kronična infekcija ovom bakterijom može uzrokovati upalu, atrofični gastritis, intestinalnu metaplaziju i na kraju dovesti do razvoja raka. Osim *H. pylori*, promjene u mikrobiomu želuca mogu dovesti do disbioze, što može rezultirati kroničnom upalom i promjenom imunološkog odgovora. Disbioza može utjecati na propusnost crijeva, što omogućava prolazak bakterijskih toksina i pro-upalnih molekula koje mogu poticati karcinogenezu [76]. Studije su dokazale da i pojedinačni uzročnici, a ne samo disbioza, mogu negativno utjecati na želučanu sluznicu. Primjerice, Nie i suradnici dokazali su pozitivnu korelaciju između infiltracije bakterijama roda *Fusobacterium* sp. sa pojačanom ekspresijom p53 onkoproteina, kao i pojavom tumor infiltrirajućih limfocita u stanicama raka želuca [77]. Mikrobiota može imati i pozitivan učinak na zdravlje želučane sluznice. Suplementacija *Lactobacillus* spp. kulturama pokazala se učinkovita u eradikaciji *H. pylori* u pacijenata s kroničnim gastritisom sprječavajući daljnju progresiju bolesti [78]. Bakterije su se pokazale kao potencijalno vrlo obećavajući način liječenja raka želuca, ali i drugih tumorskih oboljenja u budućnosti. Klostridije, Šigele, Bifidobakterije, Listerije, Vibrije, samo su neki od

mikroorganizama koji prolaze ispitivanja u ove svrhe. Bakterije polučuju antitumorski učinak na temelju nekoliko različitih mehanizama: 1) Kolonizacijom tumora; 2) Otpuštanjem supstanci, u prvom redu razgradnih produkata metabolizma; 3) Smanjujući priljev nutrijenata tumorskom tkivu; 4) Služe kao nosači za antitumorske lijekove; 5) Stvaraju zaštitni biofilm; 6) Pospješuju imunosni odgovor domaćina [79].

5.1.1. Utjecaj infekcije *H. pylori* i kronične upale

H. pylori je gram-negativna bakterija koja specifično kolonizira želučani epitel, uzrokujući jednu od najčešćih bakterijskih infekcija uopće. Infekcija *H. pylori* jedan je od glavnih čimbenika rizika za razvoj karcinoma želuca [76, 80-82]. Ova bakterija doprinosi karcinogenezi kroz nekoliko mehanizama, uključujući induciranje kronične upale i oštećenje DNA želučanih epitelnih stanica na nekoliko različitih načina, što može potaknuti genetsku nestabilnost.

Kronična upala inducirana *H. pylori* igra ključnu ulogu u razvoju karcinoma želuca. Infekcija izaziva imunološki odgovor putem različitih molekularnih puteva u želučanim epitelnim stanicama i cirkulirajućim imunološkim stanicama, kao što su neutrofil, makrofagi i limfociti. Neutrofil, na primjer, proizvode reaktivne vrste kisika (engl. *Reactive Oxygen Species*, ROS) i reaktivne vrste dušika (engl. *Reactive Nitrogen Species*, RNS) koji imaju dvojaku funkciju: djeluju kao antimikrobni agensi i reguliraju fiziološke funkcije neutrofila. Međutim, *H. pylori* može preživjeti oksidativni stres zbog mehanizama obrane povezanih s proizvodnjom antioksidativnih enzima. *H. pylori* može pridonijeti povećanju oksidativnog stresa u želučanim epitelnim stanicama, čime doprinosi oštećenju DNA i potiče genetsku nestabilnost [80].

Infekcija *H. pylori* uzrokuje smanjenu sposobnost zaraženih stanica da poprave oštećenja DNA, što može povećati genetsku nestabilnost i postupno dovesti do nakupljanja mutacija. Nadalje, te mutacije mogu aktivirati onkogene i deaktivirati supresorske gene tumora, čime se povećava rizik od razvoja karcinoma želuca. *H. pylori* infekcija također potiče nastanak kroničnog neutrofičnog gastritisa koji može napredovati do crijevne metaplazije, displazije i konačno, karcinoma želuca. U ovom sekvencijalnom procesu, kronični upalni odgovor i prisutnost specifičnih bakterijskih čimbenika virulencije; kao što su citotoksin-povezani gen A (*CagA*) i vakuolizirajući

citotoksin A (VacA); igraju temeljnu ulogu u oštećenju DNA stanica domaćina i aktivaciji specifičnih puteva koji podržavaju preživljavanje stanica, pri čemu se oba procesa često međusobno podržavaju [82].

Osim toga, *H. pylori* inducira ekspresiju sperminske oksidaze (SMOX), enzima za povratnu konverziju spermina u spermidin. Kao nusprodukt ove reakcije nastaje vodikov peroksid (H_2O_2) čija povećana proizvodnja može uzrokovati dodatno nakupljanje ROS-a putem depolarizacije mitohondrijske membrane i aktivacije apoptoze posredovane djelovanjem sustava kaspaza [83].

Adaptivni imunološki odgovor također igra važnu ulogu u patogenezi karcinoma želuca povezanog s *H. pylori*. Infekcija *H. pylori* povezana je s izraženom mukoznom indukcijom citokina tipa 1 T-pomoćnih (Th1) stanica (npr. IFN- γ) i citokina tipa Th17 (npr. IL-17A, IL-21), koji su regulirani specifičnim molekulama izlučenih od strane antigen-prezentirajućih stanica, kao što su interleukin IL-12 i IL-23. Ovi citokini održavaju kontinuiranu upalu, koja pridonosi razvoju karcinoma želuca [84].

Među čimbenicima virulencije *H. pylori*, CagA i patogenetski otok povezan s citotoksinom (cagPAI) imaju centralnu ulogu u patogenezi bolesti povezanih s *H. pylori*, kao što su akutni gastritis i želučani ulkus, kao i u razvoju karcinoma želuca. Proteinska komponenta CagA može promijeniti signalizaciju stanica domaćina što može dovesti do promjena u adheziji, širenju i migraciji stanica. Pored toga, VacA, još jedan ključni čimbenik virulencije *H. pylori*, ima višestruke učinke na stanice domaćina, uključujući vakuolizaciju, nekrozu i apoptozu. VacA može promicati kolonizaciju *H. pylori* neutralizacijom kiselog mikrookoliša blizu bakterija i inducirati staničnu smrt i aktivaciju autofagije. *H. pylori* infekcija dovodi do upale i izravnog oštećenja DNA, što može uzrokovati genetsku nestabilnost i pridonijeti razvoju karcinoma želuca. Razumijevanje ovih patogenetskih mehanizama ključno je za razvijanje učinkovitih strategija prevencije i liječenja karcinoma želuca povezanog s *H. pylori* [85].

H. pylori također utječe na homolognu rekombinaciju (HR) i nehomologno povezivanje krajeva (NHEJ). Infekcija smanjuje ekspresiju HR komponenti i povećava ekspresiju gena povezanih s NHEJ, čime potiče pogrešan popravak DNA i povećava rizik od kromosomskih aberacija i genetske nestabilnosti. *H. pylori* također doprinosi stvaranju tumorske mikrookoline koja podržava karcinogenezu. Infekcija može inducirati sekreciju različitih citokina, kemokina i faktora rasta, što potiče upalu, angiogenezu i

invazivnost tumorskih stanica. Na primjer, citokini poput IL-17A i IL-21 mogu povećati proizvodnju metaloproteinaza (MMP-2 i MMP-9), što može potaknuti invaziju i metastaziranje tumora [85].

Eradikacija *H. pylori* može značajno smanjiti rizik od razvoja karcinoma želuca, osobito u ranim fazama infekcije prije nego što se razviju ozbiljne prekancerozne lezije. Stoga su programi probira i liječenja *H. pylori* ključni za smanjenje incidencije raka želuca. Nedavne studije sugeriraju da dugotrajna zaštita od karcinoma želuca može biti postignuta kroz uspješnu eradikaciju *H. pylori*, posebno kod osoba bez naprednih želučanih lezija [84].

Okolišni čimbenici mogu imati sinergistički učinak s infekcijom *H. pylori*. Interakciju prehrambenih čimbenika i *Helicobacter* možemo vidjeti na primjeru visokog unosa soli, nitrita i nitrata. Sol može oštetiti sluznicu želuca i povećati kolonizaciju *H. pylori* u želucu, pogoršavajući upalu. Dakako, nitriti i nitrati iz hrane samo po sebi imaju negativan učinak na želučani epitel. Mogu se pretvoriti u nitrozamine, dokazane kancerogene koji mogu uzrokovati oštećenje DNA i mutacije koje vode do karcinoma [86].

5.1.2. Karcinomi povezani s EBV infekcijom

Epstein-Barr virus, gamma-herpesvirus, poznat je po tome što uzrokuje nekoliko vrsta maligniteta, uključujući karcinom želuca. EBV-asocirani karcinom želuca (EBVaGC) predstavlja imunološki, molekularno i patološki jedinstvenu vrstu u odnosu na EBV-negativni karcinom želuca (EBVnGC). Infekcija EBV-om može nastati prijenosom virusa putem sline, što često dovodi do primarne infekcije B limfocita u tonzilarnim kriptama. EBV može inficirati želučane epitelne stanice na nekoliko načina, uključujući reaktivaciju latentnog virusa u inficiranim B stanicama koje migriraju kroz želučanu sluznicu. Ova infekcija može rezultirati razvojem EBVaGC [87].

EBVaGC se razlikuje od EBVnGC-a po makroskopskim, mikroskopskim, molekularnim i morfološkim karakteristikama. Primijećeno je da se često razvija u proksimalnim regijama želuca, kao što su kardija, fundus i tijelo želuca. EBV-kodirani proteini igraju ključnu ulogu u oblikovanju imunološkog mikrookruženja EBVaGC-a i promicanju rasta

tumora. Jedan takva, Epstein–Barr nuklearni antigen 1 (EBNA1) je protein koji se uniformno eksprimira u EBVaGC-ima. EBNA1 izravno potiče perzistenciju latentnih EBV genoma i ima direktan utjecaj na preživljavanje stanica i onkogenezu . Ovaj protein antagonizira TP53 put, degradira tumorski supresorski protein PML i modulira različite signalne puteve [88].

EBVaGC je povezan s brojnim genetičkim promjenama, uključujući somatske mutacije gena kao što su PIK3CA i ARID1A, što dovodi do povećane aktivacije Akt puta, rasta tumora i invazivnosti. Ove promjene pridonose razvoju i progresiji tumora te utječu na ishode pacijenata. Pored genetičkih promjena, EBVaGC karakterizira epigenetska disregulacija, uključujući promjene u obrascima metilacije DNA i ekspresiji miRNA povezanih s EBV-om. EBVaGC pripada kategoriji visokog CpG-otok metilator fenotipa (CIMP-H) [89]. Više od 1000 gena je diferencijalno metilirano, a ovi geni su obogaćeni u signalnim putevima povezanim s rakom .

U usporedbi s EBVnGC, EBVaGC je "imunološki topao" tumor s visokom infiltracijom imunoloških stanica, uključujući CD8+ i CD4+ T stanice te dendritičke stanice (DCs) . Ove razlike u infiltraciji imunskih stanica značajno utječu na imunološki odgovor protiv tumora, što doprinosi razlikama u prognozi i odgovoru na terapiju. EBVaGC pokazuje veći izražaj imunoregulacijskih gena koji pomažu u formiranju imunosupresivnog TME-a. Povećana ekspresija PD-L1 u EBVaGC-u povezana je s lošijim ishodima pacijenata [90].

Imunoterapija se pokazala učinkovitim pristupom za liječenje EBVaGC-a monoklonskim antitijelima kao što su pembrolizumab, koja cilja PD-1, pokazujući obećavajuće rezultate. Studije su pokazale da je odgovor na liječenje povezan s ekspresijom PD-L1, čineći bolesnike oboljele od EBVaGC-a prikladnim kandidatima za testiranje imunoterapije u vidu anti-PD-1 lijekova [89, 90].

EBV genom kodira do 48 zrelih mikroRNA (miRNA), koje imaju važnu ulogu u remodeliranju staničnog transkriptoma, ometanju imunoloških signala i doprinosu progresiji tumora i bijegu od imunološkog odgovora. Viralne RNA s najvećim postotkom transkripcije u EBVaGC-u dolaze iz BamHI-A regije genoma, uključujući BamHI-A desne transkripte (BART), koji kodiraju 44 intronske viralne miRNA [91].

Ove miRNA reguliraju ekspresiju gena na post-transkripcijskom nivou, što dovodi do destabilizacije mRNA. Osim toga, EBV-miRNA su pokazale sposobnost modulacije

viralne ekspresije gena. Najčešće u svrhu latentnih infekcija i izbjegavanja imunološkog nadzora. Većina EBV povezanih karcinoma, uključujući nazofaringealne karcinome (NPC), Burkittove limfome i T/NK limfome, prikazuju specifične geografske obrasce proširenosti. Međutim, učestalost EBVaGC ne pokazuje takve regionalne varijacije, što sugerira da okolišne ili genetske razlike domaćina možda igraju manju ulogu u EBVaGC-u u usporedbi s drugim karcinomima povezanim s EBV infekcijom. Stoga, ostaje otvoreno pitanje jesu li genetske razlike između EBV podtipova odgovorne za povećan rizik od razvoja EBVaGC-a nakon EBV infekcije [92].

Što se tiče T-staničnog antitumorskog odgovora, EBVaGC je nešto „povoljniji“ u odnosu na druge želučane karcinome. Naime, EBVaGC-ovi pokazuju višu razinu ekspresije MHC-I i MHC-II gena u usporedbi s drugim podtipovima karcinoma želuca, što omogućuje bolju prezentaciju antigena i njihovo prepoznavanje od strane citotoksičnih T-limfocita (CTL) [93].

5.2. Uloga stanica tumorskog mikrookoliša

Tumorski mikrookoliš čine različite vrste stanica, uključujući imunološke stanice, epitelne stanice i stromalne stanice. Ove stanice međusobno djeluju i stvaraju kompleksne signalne mreže koje utječu na inicijaciju, progresiju i metastaziranje tumora, kao i na otpornost na terapiju. Fibroblasti povezani s karcinomom (CAF) su najčešća komponenta stromalnih stanica u tumorskom mikrookolišu. Ove stanice potiču rast tumora, angiogenezu i metastaziranje kroz različite mehanizme. CAF-ovi mogu nastati diferencijacijom normalnih fibroblasta ili transformacijom drugih stromalnih stanica i imunoloških stanica. CAF izlučuju faktore rasta, kemokine i metabolite koji preoblikuju izvanstanični matriks, potiču rast stanica raka i utječu na otpornost tumorskih stanica na antitumorsku terapiju. To ih čini važnom metom za terapije usmjerene protiv raka [94].

Mezenhimalne matične stanice (MSC) također čine značajan dio stromalnih stanica u TME. Ove stanice mogu migrirati iz okolnog tkiva ili mogu nastati diferencijacijom iz tumorskih stanica. MSC izlučuju različite faktore koji utječu na tumorske stanice, potičući njihovu proliferaciju, migraciju i otpornost na terapiju. Na primjer, MSC mogu

izlučivati ekzosome koji sadrže mikroRNA, što može dovesti do promjene u ekspresiji gena u tumorskim stanicama i poticanja njihovog rasta [94].

Tumorski endotelne stanice (TEC) sudjeluju u stvaranju tumorskih krvnih žila koje su fenotipski i morfološki različite od normalnih krvnih žila. Ove stanice ne samo da reguliraju angiogenezu, već također igraju ulogu u otpornosti na antitumorsku terapiju. Strategije liječenja koje ciljaju TEC uključuju upotrebu antiangiogenih lijekova, kao što su monoklonska antitijela i kinazni inhibitori [94].

Periciti (PC) su stanice koje oblažu unutarnju površinu krvnih žila i reguliraju njihovu stabilnost i propusnost. U tumorskom mikrookolišu, PC sudjeluju u angiogenezi i remodeliranju krvnih žila, što može dovesti do progresije tumora. Također, PC mogu transformirati u druge stromalne stanice, dodatno pridonoseći kompleksnosti tumorskog mikrookoliša. Njihova uloga u regulaciji imunološkog odgovora u TME također je značajna [95].

Epitelne stanice su osnovne jedinice žljezdanog tkiva želuca i njihova transformacija u maligne stanice je ključna u razvoju karcinoma želuca. Proces epitelno-mesenhimalnog prijelaza je posebno važan jer omogućava epitelnim stanicama da steknu migracijske i invazivne osobine. Tijekom EMT-a, epitelne stanice gube svoje adhezivne osobine i stječu fibroblastni fenotip, što im omogućava da migriraju i invadiraju okolna tkiva. Interakcija između stromalnih i epitelnih stanica je od iznimne važnosti za razvoj i progresiju karcinoma želuca. Stromalne stanice, kao što su CAF-ovi i MSCs, izlučuju faktore koji mogu utjecati na epitelne stanice, potičući njihovu proliferaciju i migraciju. S druge strane, epitelne stanice mogu izlučivati signale koji aktiviraju stromalne stanice. Na primjer, ekzosomi izlučeni iz epitelnih stanica raka želuca mogu inducirati transformaciju pericita u CAF, čime se dodatno potiče tumorska progresija [95].

Ove interakcije stvaraju začarani krug u kojem stromalne i epitelne stanice međusobno potiču svoj rast i invazivnost, što dovodi do progresije tumora i otpornosti na terapiju. [96].

Nadalje, stromalne stanice doprinose otpornosti tumora na terapiju kroz nekoliko mehanizama. Jedan od njih je fizička barijera koju čini izvanstanični matriks (ECM) koji je reguliran od strane CAF. ECM može ograničiti prodor kemoterapeutika i drugih vrsta terapije do tumorskih stanica. Pored toga, stromalne stanice izlučuju proteine kao što

su kolagen i fibronektin koji jačaju strukturu ECM-a i doprinose mehaničkoj otpornosti tumora [94].

Postoje različite strategije za ciljanje stromalnih stanica kako bi se poboljšala učinkovitost antitumorske terapije. Jedna od njih je upotreba inhibitora signalnih puteva specifičnih za stromalne stanice. Na primjer, inhibitori TGF- β signalnog puta mogu spriječiti EMT i smanjiti invazivnost tumorskih stanica. Također, inhibitori proteina kao što su PDGFR (receptor za faktor rasta deriviran iz trombocita) mogu smanjiti aktivnost i proliferaciju CAF, čime se smanjuje njihova podrška tumorskim stanicama [94].

Druga strategija uključuje upotrebu lijekova koji razgrađuju izvanstanični matriks. Na primjer, inhibitori matriks metaloproteinaza (MMP) mogu smanjiti remodeliranje ECM-a i poboljšati prodor kemoterapijskih lijekova u tumor. Inhibicija signalnih puteva koji su ključni za EMT, kao što su Wnt, Notch, i TGF- β , može smanjiti invazivnost i metastaziranje tumorskih stanica. Također, imunoterapije koje ciljaju specifične antigene na površini epitelnih stanica, kao što su HER2 i PD-L1, pokazale su značajan terapijski potencijal u liječenju karcinoma želuca [97].

6. ZAKLJUČAK

Karcinom želuca predstavlja kompleksan zdravstveni problem s multifaktorijskom etiologijom koja uključuje genetske mutacije, epigenetske promjene i okolišne čimbenike. Genetske mutacije, poput onih u TP53, CDH1 i PIK3CA genima, igraju ključnu ulogu u razvoju i progresiji ovog karcinoma, dok epigenetske modifikacije, uključujući metilaciju DNA i histonske modifikacije, dodatno doprinose deregularizaciji gena važnih za staničnu proliferaciju i preživljavanje. Signalni putevi kao što su Wnt/beta-kateninski i Hedgehog također značajno utječu na karcinogenezu kroz regulaciju staničnih procesa poput proliferacije, diferencijacije i apoptoze. Mikrookolina tumora, uključujući mikrobiom i stanice tumorskog mikrookoliša, također ima važnu ulogu u progresiji bolesti. Unatoč napretku u razumijevanju molekularnih mehanizama, rak želuca ostaje izazovan za liječenje, čak i u zapadnim zemljama; gdje se unatoč većoj razini zdravstvene skrbi u odnosu na ostatak svijeta, često dijagnosticira u uznapređanoj fazi.

Ipak, nova saznanja o genetici, epigenetici, daljnje proučavanje signalnih puteva i tumorske mikrookoline predstavljaju vitalno važne principe za razumijevanje jedne kompleksne bolesti kao što je karcinom želuca i daju nadu da ćemo ga u budućnosti u potpunosti razumjeti i jednako uspješno liječiti.

ZAHVALE

Zahvaljujem se mentoru, izv.prof.dr.sc. Nevenu Baršiću na stručnoj pomoći i savjetima prilikom izrade ovog rada.

Također, želim se zahvaliti mojim dragim prijateljima koji su ispunili moje akademske dane smijehom i veseljem, bez kojih studiranje ne bi bilo ni upola zabavno.

Na poslijetku, želim uputiti najveće zahvale mojoj obitelji, ponajviše roditeljima koji su me pratili i bili moj oslonac kroz cijelo školovanje; kao i mojoj budućoj životnoj suputnici. Bez vas ništa od ovog ne bi bilo moguće.

LITERATURA

1. Svjetska zdravstvena organizacija. Cancer [Internet]. World Health Organisation; c2024 [pristupljeno 26.7.2024.]. Dostupno na: <https://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>.
2. Park B, Shin A, Park SK, Ko K-P, Ma SH, Lee E-H, i sur. Ecological study for refrigerator use, salt, vegetable, and fruit intakes, and gastric cancer. *Cancer Causes Control*. 2011;22(11):1497–502.
3. Springer. Stomach Cancer [slika s interneta]. Svibanj 2022. [pristupljeno 27.7.2024.]. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00464-022-09280-0>.
4. Fanghaenel JJ. Waldeyerova anatomija čovjeka, hrvatsko izdanje. Ur. Vinter I. Zagreb: Golden marketing, 2009.
5. Lumelearning. Stomach Anatomy [slika s interneta]. Travanj 2015. [pristupljeno 27.7.2024.]. Dostupno na: <https://courses.lumenlearning.com/suny-ap2/chapter/the-stomach/>.
6. Gordon Betts J, Young KA, Wise JA. *Anatomy and Physiology*, 2. izd. London: RICE, 2020.
7. Thrift AP, Nguyen TH. Gastric cancer epidemiology. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics*, 2021; 31(3): 425-439.
8. Ooi CH, Ivanova T, Wu J, Lee M, Tan IB, Tao J. Oncogenic pathway combinations predict clinical prognosis in gastric cancer. *PLoS Genet*. 2009 Oct. 5(10):e1000676.
9. Sun D, Cao M, Li H, He S, Chen W. Cancer burden and trends in China: A review and comparison with Japan and South Korea. *Chinese Journal of Cancer Research*. 2020; 32(2): 129.
10. Ilic M, Ilic I. Epidemiology of stomach cancer. *World journal of gastroenterology*. 2022; 28(12): 1187.
11. Američko društvo za rak - ACS. Gastric Cancer [Internet]. American Cancer Society; c2024 [pristupljeno 29.7.2024.]. Dostupno na: <https://www.cancer.org/cancer/types/stomach-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html>.

12. Američko društvo za rak - ACS. Key statistics about stomach cancer [Internet]. American Cancer Society; c2024 [pristupljeno 29.7.2024.] Dostupno na: <https://www.cancer.org/cancer/stomachcancer/detailedguide/stomach-cancer-key-statistics>.
13. Iwu CD, Iwu-Jaja CJ. Gastric cancer epidemiology: Current trend and future direction. *Hygiene*. 2023; 3(3): 256-268.
14. Arnold M, Park JY, Camargo MC, Lunet N, Forman D, Soerjomataram I. Is gastric cancer becoming a rare disease? A global assessment of predicted incidence trends to 2035. *Gut*. 2020 Jan 30.
15. Machlowska J, Baj J, Sitarz M, Maciejewski R, Sitarz R. Gastric cancer: epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21(11): 4012.
16. Hrvatski zavod za javno zdravstvo – HZJZ. Incidencija raka u Hrvatskoj [Internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo – HZJZ; c2024 [pristupljeno 30.7.2024.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/incidencija-raka-u-hrvatskoj-u-2021-godini/>.
17. Buiatti E, Palli D, Decarli A, Amadori D, Avellini C, Bianchi S, i sur. A case-control study of gastric cancer and diet in Italy. *Int J Cancer*. 1989;44(4):611-6.
18. Steevens J, Schouten LJ, Goldbohm RA, van den Brandt PA. Alcohol consumption, cigarette smoking and risk of subtypes of oesophageal and gastric cancer: a prospective cohort study. *Gut*. 2010 Jan. 59(1):39-48.
19. González CA, Pera G, Agudo A, Palli D, Krogh V, Vineis P, i sur. Smoking and the risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer*. 2003;107(4):629-34.
20. Wang X, Li J, Liu W, Zhang X, Xue L. The diagnostic value of interleukin 6 as a biomarker for gastric cancer: A meta-analysis and systematic review. *Medicine*. 2021;100(47): e27945.
21. Usui Y, Taniyama Y, Endo M, Koyanagi YN, Kasugai Y, Oze I, i sur. Helicobacter pylori, Homologous-Recombination Genes, and Gastric Cancer. *N Engl J Med*. 2023 Mar 30. 388 (13):1181-1190.
22. Choi IJ, Kim CG, Lee JY, Kim YI, Kook MC, Park B, i sur. Family History of Gastric Cancer and Helicobacter pylori Treatment. *N Engl J Med*. 2020 Jan 30. 382 (5):427-436.

23. Ferro A, Rosato V, Rota M, Costa AR, Morais S, Pelucchi C, i sur. Meat intake and risk of gastric cancer in the Stomach cancer Pooling (StoP) project. *International journal of cancer*. 2020; 147(1): 45-55.
24. Liu D, Liang L, Liu L, Zhu Z, Liu S, Hu L, i sur. Short-term outcomes and prognosis of laparoscopy-assisted total gastrectomy in elderly patients with stomach cancer. *Surgical Endoscopy*. 2020; 34: 5428-5438.
25. Li SS, Udelsman BV, Parikh A, Klempner SJ, Clark JW, Roeland EJ, i sur. Impact of postoperative complication and completion of multimodality therapy on survival in patients undergoing gastrectomy for advanced gastric cancer. *Journal of the American College of Surgeons*, 2020; 230(6): 912-924.
26. Rosa F, Schena CA, Laterza V, Quero G, Fiorillo C, Strippoli A, Alfieri S. The role of surgery in the management of gastric cancer: state of the art. *Cancers*. 2022; 14(22): 5542.
27. Chen K, Xu J, Tong YL, Yan JF, Pan Y, Wang WJ, i sur. Rab31 promotes metastasis and cisplatin resistance in stomach adenocarcinoma through Twist1-mediated EMT. *Cell Death & Disease*. 2023; 14(2): 115.
28. Yanagi T, Shibamoto Y. Clinical outcomes of intraoperative radiotherapy, postoperative radiotherapy, and definitive radiotherapy for non-metastatic pancreatic cancer. *The Kurume Medical Journal*. 2020; 67(4): 163-170.
29. Graziano F, Fischer NW, Bagaloni I, Di Bartolomeo M, Lonardi S, Vincenzi B, i sur. TP53 Mutation Analysis in Gastric Cancer and Clinical Outcomes of Patients with Metastatic Disease Treated with Ramucirumab/Paclitaxel or Standard Chemotherapy. *Cancers (Basel)*. 2020 Jul 24;12(8):2049.
30. Yeoh KG, Tan P. Mapping the genomic diaspora of gastric cancer. *Nat Rev Cancer*. 2022 Feb;22(2):71-84.
- 31.32. Seidlitz T, Chen YT, Uhlemann H, Schölch S, Kochall S, Merker SR, i sur. Mouse Models of Human Gastric Cancer Subtypes With Stomach-Specific CreERT2-Mediated Pathway Alterations. *Gastroenterology*. 2019 Dec;157(6):1599-1614.e2.
32. Guan Z, Chen J, Li X, Dong N. Tanshinone IIA induces ferroptosis in gastric cancer cells through p53-mediated SLC7A11 down-regulation. *Biosci Rep*. 2020 Aug 28;40(8):BSR20201807.

33. Togasaki K, Sugimoto S, Ohta Y, Nanki K, Matano M, Takahashi S, i sur. Wnt Signaling Shapes the Histologic Variation in Diffuse Gastric Cancer. *Gastroenterology*. 2021 Feb;160(3):823-830.
34. Sahgal P, Huffman BM, Patil DT, Chatila WK, Yaeger R, Cleary JM, i sur. Early TP53 Alterations Shape Gastric and Esophageal Cancer Development. *Cancers (Basel)*. 2021 Nov 24;13(23):5915.
35. Yu R, Sun T, Zhang X, Li Z, Xu Y, Liu K, i sur. TP53 Co-Mutational Features and NGS-Calibrated Immunohistochemistry Threshold in Gastric Cancer. *Onco Targets Ther*. 2021 Oct 1;14:4967-4978.
36. Ghojazadeh M, Somi MH, Naseri A, Salehi-Pourmehr H, Hassannezhad S, Hajikamanaj Olia A, i sur. Systematic Review and Meta-analysis of TP53, HER2/ERBB2, KRAS, APC, and PIK3CA Genes Expression Pattern in Gastric Cancer. *Middle East J Dig Dis*. 2022 Jul;14(3):335-345.
37. Nishiyama A, Nakanishi M. Navigating the DNA methylation landscape of cancer. *Trends Genet*. 2021 Nov;37(11):1012-1027.
38. Liu HL, Feng X, Tang MM, Zhou HY, Peng H, Ge J, i sur. Prognostic significance of preoperative lymphocyte to monocyte ratio in patients with signet ring gastric cancer. *World J Gastrointest Surg*. 2023 Aug 27;15(8):1673-1683.
39. Dongre A, Weinberg RA. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019 Feb;20(2):69-84.
40. Bücken L, Lehmann U. CDH1 (E-cadherin) Gene Methylation in Human Breast Cancer: Critical Appraisal of a Long and Twisted Story. *Cancers (Basel)*. 2022 Sep 8;14(18):4377.
41. Costa L, Corre S, Michel V, Le Luel K, Fernandes J, Ziveri J, i sur. USF1 defect drives p53 degradation during *Helicobacter pylori* infection and accelerates gastric carcinogenesis. *Gut*. 2020 Sep;69(9):1582-1591.
42. Yang J, Liu Z, Zeng B, Hu G, Gan R. Epstein-Barr virus-associated gastric cancer: A distinct subtype. *Cancer Lett*. 2020 Dec 28;495:191-199.
43. Stanland LJ, Ang HX, Hoj JP, Chu Y, Tan P, Wood KC, i sur. CBF-Beta Mitigates PI3K-Alpha-Specific Inhibitor Killing through PIM1 in PIK3CA-Mutant Gastric Cancer. *Mol Cancer Res*. 2023 Nov 1;21(11):1148-1162.

44. Choi S, Kim H, Heo YJ, Kang SY, Ahn S, Lee J, i sur. PIK3CA mutation subtype delineates distinct immune profiles in gastric carcinoma. *J Pathol.* 2023 Aug;260(4):443-454.
45. Li N, Zeng A, Wang Q, Chen M, Zhu S, Song L. Regulatory function of DNA methylation mediated lncRNAs in gastric cancer. *Cancer Cell Int.* 2022 Jul 9;22(1):227.
46. Wang X, Dong Y, Zhang H, Zhao Y, Miao T, Mohseni G, i sur. DNA methylation drives a new path in gastric cancer early detection: Current impact and prospects. *Genes Dis.* 2023 Mar 30;11(2):847-860.
47. Lin R, Qian Y, Zhang J, Xia D, Guo D, Hong L, i sur. Genome-wide DNA methylation profiling of gastric cardia cancer. *J Gastroenterol Hepatol.* 2023 Feb;38(2):290-300.
48. Dai J, Nishi A, Li ZX, Zhang Y, Zhou T, You WC, i sur. DNA methylation signatures associated with prognosis of gastric cancer. *BMC Cancer.* 2021 May 25;21(1):610.
49. Guo X, Wang Y, Zha L, Li H, Qian K. DNA methylation-related lncRNAs predict prognosis and immunotherapy response in gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2023 Nov;149(16):14745-14760.
50. Yang D, Yin J, Shan L, Yi X, Zhang W, Ding Y. Identification of lysine-lactylated substrates in gastric cancer cells. *iScience.* 2022 Jun 17;25(7):104630.
51. Tang SY, Zhou PJ, Meng Y, Zeng FR, Deng GT. Gastric cancer: An epigenetic view. *World J Gastrointest Oncol.* 2022 Jan 15;14(1):90-109.
52. Christodoulidis G, Koumarelas KE, Kouliou MN, Thodou E, Samara M. Gastric Cancer in the Era of Epigenetics. *Int J Mol Sci.* 2024 Mar 16;25(6):3381.
53. Calcagno DQ, Wisnieski F, Mota ERDS, Maia de Sousa SB, Costa da Silva JM, Leal MF, i sur. Role of histone acetylation in gastric cancer: implications of dietetic compounds and clinical perspectives. *Epigenomics.* 2019 Feb;11(3):349-362.
54. Qin J, Wen B, Liang Y, Yu W, Li H. Histone Modifications and their Role in Colorectal Cancer (Review). *Pathol Oncol Res.* 2020 Oct;26(4):2023-2033.
55. Xie M, Zhang L, Han L, Huang L, Huang Y, Yang M, i sur. The ASH1L-AS1-ASH1L axis controls NME1-mediated activation of the RAS signaling in gastric cancer. *Oncogene.* 2023 Nov;42(46):3435-3445.

56. Li Y, Liu C, Zhang X, Huang X, Liang S, Xing F, i sur. CCT5 induces epithelial-mesenchymal transition to promote gastric cancer lymph node metastasis by activating the Wnt/ β -catenin signalling pathway. *Br J Cancer*. 2022 Jun;126(12):1684-1694.
57. Peng Y, Xu Y, Zhang X, Deng S, Yuan Y, Luo X, i sur. A novel protein AXIN1-295aa encoded by circAXIN1 activates the Wnt/ β -catenin signaling pathway to promote gastric cancer progression. *Mol Cancer*. 2021 Dec 4;20(1):158.
58. Akhavanfar R, Shafagh SG, Mohammadpour B, Farahmand Y, Lotfalizadeh MH, Kookli K, i sur. A comprehensive insight into the correlation between ncRNAs and the Wnt/ β -catenin signalling pathway in gastric cancer pathogenesis. *Cell Commun Signal*. 2023 Jun 29;21(1):166.
59. Lo YH, Kolahi KS, Du Y, Chang CY, Krokhotin A, Nair A, i sur. A CRISPR/Cas9-Engineered ARID1A-Deficient Human Gastric Cancer Organoid Model Reveals Essential and Nonessential Modes of Oncogenic Transformation. *Cancer Discov*. 2021 Jun;11(6):1562-1581.
60. Kim Y, Bae YJ, Kim JH, Kim H, Shin SJ, Jung DH, i sur. Wnt/ β -catenin pathway is a key signaling pathway to trastuzumab resistance in gastric cancer cells. *BMC Cancer*. 2023 Sep 29;23(1):922.
61. He R, Chen Y, Qian C, Hu Y, Huang X, Tao R. Dishevelled segment polarity protein 2 promotes gastric cancer progression through Wnt/ β -catenin pathway. *Tissue Cell*. 2023 Jun;82:102119.
62. Koh V, Chakrabarti J, Torvund M, Steele N, Hawkins JA, Ito Y, i sur. Hedgehog transcriptional effector GLI mediates mTOR-Induced PD-L1 expression in gastric cancer organoids. *Cancer Lett*. 2021 Oct 10;518:59-71.
63. Cao W, Li Y, Sun H, Yang C, Zhu J, Xie C, i sur. Apatinib Suppresses Gastric Cancer Stem Cells Properties by Inhibiting the Sonic Hedgehog Pathway. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Jul 19;9:679806.
64. Li K, Sun S, Lu Y, Liang W, Xu X, Zhang H, i sur. MT1M regulates gastric cancer progression and stemness by modulating the Hedgehog pathway protein GLI1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2023 Aug 30;670:63-72.
65. Liu X, Yao L, Qu J, Liu L, Lu N, Wang J, i sur. Cancer-associated fibroblast infiltration in gastric cancer: the discrepancy in subtypes pathways and immunosuppression. *J Transl Med*. 2021 Jul 31;19(1):325.

66. Doheny D, Manore SG, Wong GL, Lo HW. Hedgehog Signaling and Truncated GLI1 in Cancer. *Cells*. 2020 Sep 17;9(9):2114.
67. Ke B, Wang XN, Liu N, Li B, Wang XJ, Zhang RP, i sur. Sonic Hedgehog/Gli1 Signaling Pathway Regulates Cell Migration and Invasion via Induction of Epithelial-to-mesenchymal Transition in Gastric Cancer. *J Cancer*. 2020 Apr 6;11(13):3932-3943.
68. Kato M, Kato M. Precision medicine for human cancers with Notch signaling dysregulation (Review). *Int J Mol Med*. 2020 Feb;45(2):279-297.
69. Hibdon ES, Razumilava N, Keeley TM, Wong G, Solanki S, Shah YM, i sur. Notch and mTOR Signaling Pathways Promote Human Gastric Cancer Cell Proliferation. *Neoplasia*. 2019 Jul;21(7):702-712.
70. Jiang Q, Chen H, Zhou S, Zhu T, Liu W, Wu H, i sur. Ubiquilin-4 induces immune escape in gastric cancer by activating the notch signaling pathway. *Cell Oncol (Dordr)*. 2024 Feb;47(1):303-319.
71. Chung WC, Zhou Y, Atfi A, Xu K. Downregulation of Notch Signaling in Kras-Induced Gastric Metaplasia. *Neoplasia*. 2019 Aug;21(8):810-821.
72. Wu YJ, Hu ZL, Hu SD, Li YX, Xing XW, Yang Y, i sur. Glutamate dehydrogenase inhibits tumor growth in gastric cancer through the Notch signaling pathway. *Cancer Biomark*. 2019;26(3):303-312.
73. Loe AKH, Rao-Bhatia A, Wei Z, Kim JE, Guan B, Qin Y, i sur. YAP targetome reveals activation of SPEM in gastric pre-neoplastic progression and regeneration. *Cell Rep*. 2023 Dec 26;42(12):113497.
74. Piao HY, Guo S, Wang Y, Zhang J. Long noncoding RNA NALT1-induced gastric cancer invasion and metastasis via NOTCH signaling pathway. *World J Gastroenterol*. 2019 Nov 28;25(44):6508-6526.
75. Engstrand L, Graham DY. Microbiome and Gastric Cancer. *Dig Dis Sci*. 2020 Mar;65(3):865-873.
76. Sharafutdinov I, Tegtmeyer N, Linz B, Rohde M, Vieth M, Tay AC, i sur. A single-nucleotide polymorphism in *Helicobacter pylori* promotes gastric cancer development. *Cell Host Microbe*. 2023 Aug 9;31(8):1345-1358.e6.
77. Nie S, Wang A, Yuan Y. Comparison of clinicopathological parameters, prognosis, micro-ecological environment and metabolic function of Gastric Cancer with or without *Fusobacterium* sp. *Infection*. *J Cancer*. 2021;12(4):1023–32.

78. Yu M, Zhang R, Ni P, Chen S, Duan G. Efficacy of Lactobacillus-supplemented triple therapy for H. pylori eradication: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One*. 2019;14(10):e0223309.
79. Yaghoubi A, Khazaei M, Jalili S, Hasanian SM, Avan A, Soleimanpour S, et al. Bacteria as a double-action sword in cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2020 Aug;1874(1):188388.
80. Sexton RE, Al Hallak MN, Diab M, Azmi AS. Gastric cancer: a comprehensive review of current and future treatment strategies. *Cancer Metastasis Rev*. 2020 Dec;39(4):1179-1203.
81. Waldum H, Fossmark R. Gastritis, Gastric Polyps and Gastric Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021 Jun 18;22(12):6548.
82. Thrift AP, Wenker TN, El-Serag HB. Global burden of gastric cancer: epidemiological trends, risk factors, screening and prevention. *Nat Rev Clin Oncol*. 2023 May;20(5):338-349.
83. Lim MCC, Jantaree P, Naumann M. The conundrum of Helicobacter pylori-associated apoptosis in gastric cancer. *Trends Cancer*. 2023 Aug;9(8):679-690.
84. Li L, Yu C. Helicobacter pylori Infection following Endoscopic Resection of Early Gastric Cancer. *Biomed Res Int*. 2019 Oct 16;2019:9824964.
85. Kim N. Chemoprevention of gastric cancer by Helicobacter pylori eradication and its underlying mechanism. *J Gastroenterol Hepatol*. 2019 Aug;34(8):1287-1295.
86. Zavros Y, Merchant JL. The immune microenvironment in gastric adenocarcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022 Jul;19(7):451-467.
87. Yang J, Liu Z, Zeng B, Hu G, Gan R. Epstein-Barr virus-associated gastric cancer: A distinct subtype. *Cancer Lett*. 2020 Dec 28;495:191-199.
88. Petryszyn P, Chapelle N, Matysiak-Budnik T. Gastric Cancer: Where Are We Heading? *Dig Dis*. 2020;38(4):280-285.
89. Joshi SS, Badgwell BD. Current treatment and recent progress in gastric cancer. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):264-279.
90. Ignatova E, Seriak D, Fedyanin M, Tryakin A, Pokataev I, Menshikova S, et al. Epstein-Barr virus-associated gastric cancer: disease that requires special approach. *Gastric Cancer*. 2020 Nov;23(6):951-960.

91. Fattahi S, Amjadi-Moheb F, Tabaripour R, Ashrafi GH, Akhavan-Niaki H. PI3K/AKT/mTOR signaling in gastric cancer: Epigenetics and beyond. *Life Sci.* 2020 Dec 1;262:118513.
92. Kang BW, Baek DW, Kang H, Baek JH, Kim JG. Novel Therapeutic Approaches for Epstein-Barr Virus Associated Gastric Cancer. *Anticancer Res.* 2019 Aug;39(8):4003-4010.
93. Zebardast A, Tehrani SS, Latifi T, Sadeghi F. Critical review of Epstein-Barr virus microRNAs relation with EBV-associated gastric cancer. *J Cell Physiol.* 2021 Sep;236(9):6136-6153.
94. Wang R, Song S, Qin J, Yoshimura K, Peng F, Chu Y, et al. Evolution of immune and stromal cell states and ecotypes during gastric adenocarcinoma progression. *Cancer Cell.* 2023 Aug 14;41(8):1407-1426.e9.
95. Tanaka M. Crosstalk of tumor stromal cells orchestrates invasion and spreading of gastric cancer. *Pathol Int.* 2022 Apr;72(4):219-233.
96. Zheng P, Li W. Crosstalk Between Mesenchymal Stromal Cells and Tumor-Associated Macrophages in Gastric Cancer. *Front Oncol.* 2020 Oct 9;10:571516.
97. Kim J, Park C, Kim KH, Kim EH, Kim H, Woo JK, et al. Single-cell analysis of gastric pre-cancerous and cancer lesions reveals cell lineage diversity and intratumoral heterogeneity. *NPJ Precis Oncol.* 2022 Jan 27;6(1):9.

ŽIVOTOPIS

Osobni podaci

Ime i prezime Luka Radošević

Adresa Kralja Zvonimira 152, 33515 Orahovica

E-mail kevan1911@gmail.com

Datum rođenja 19.12.1998.

Obrazovanje

2017 - Integrirani preddiplomski i diplomski studij medicine,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb (Hrvatska)

2013 – 2017 Opća gimnazija, Srednja škola Stjepan Ivšić, Orahovica

Članstva

2014 - RK Orahovica

Osobne vještine i kompetencije

Materinji jezik Hrvatski

Strani jezici Engleski C2, Njemački B1

Tehničke vještine i kompetencije

Rad na računalu; MS Office paket, Internet

Vozačka dozvola kategorije B

