

TRATAMENTUL CHIRURGICAL ȘI GENETIC AL CANCERULUI ESOFAGIAN

BOGDAN SANDOLACHE¹, CĂTĂLIN GABRIEL SMARANDACHE², ROXANA SFETEA³,
ALEXANDRU SABĂU⁴, ANDREEA BEJGĂNEANU⁵, VASILE SÂRBU⁶

^{1,5}Spitalul Universitar de Urgență București, ^{2,3}Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București, ⁴Universitatea „Lucian Blaga” din Sibiu, ⁶Spitalul Clinic Constanța

Cuvinte cheie: cancer, esofagian, tratament, chirurgical, genetic

Rezumat: Cancerul de esofag este unul din cele mai agresive tipuri de cancer digestiv și datorită diagnosticului de regulă tardiv, situației anatomice particulare, aproximativ 70% din pacienți suferă de o boală avansată locoregional sau cu metastaze la distanță necunoscute, în momentul descoperirii fiind în general în vârstă, tarați și malnutriți, adesea cașectici. Pentru cancerul esofagian localizat fără extindere loco-regională sau metastaze, chirurgia de rezecție rămâne soluția cea mai bună. Terapia genică presupune o largă varietate de tipuri de tratament care utilizează materialul genetic în tratamentul cancerului. Aceasta a presupus elaborarea unor metode de inserare a unor gene în genomul celulelor canceroase cu ajutorul a diverse sisteme de transport sau folosirea altor tehnici care permit anularea expresiei genelor implicate în cancerogeneză sau utilizarea de acid nucleic (fie ADN sau ARN) pentru a influența sinteza proteinelor. În teorie este posibilă transformarea celulelor fie somatice sau germinale prin terapia genică, iar terapia genică poate fi întreprinsă atât in vitro cât și in vivo. Lumea medicală manifestă un interes deosebit pentru introducerea în terapie a unor agenți antitumorali specifici (anticorpi, inhibitori ai receptorilor factorilor de creștere, antagoniști ai factorilor de transducție a semnalelor, vaccinurile cu celule care prezintă antigene) în asociere sau nu cu tratamentul chimioterapic.

Keywords: cancer, esophageal, surgical, genetic treatment

Abstract: Esophageal cancer is one of the most aggressive types of digestive cancers and due to the usually late diagnosis and to the peculiar anatomical localization, approximately 70% of the patients are in an advanced locoregional stage of the disease or have distance metastases which are unknown at the time of the examination, as they are in general elderly, debilitated and malnourished, often cachectic. In the case of localized esophageal cancer without locoregional extension or metastases, resection surgery remains the best solution. Gene therapy involves a wide variety of types of treatments which use genetic material for the treatment of cancer. This therapy entailed the development of methods to insert certain genes into the genome of the cancer cells by means of various transport systems or the use of other techniques which enable the cancellation of the expression of the genes involved in carcinogenesis or the use of nucleic acid (either DNA or RNA) to influence protein synthesis. Theoretically it is possible to transform either somatic or germinal cells through gene therapy, and gene therapy may be performed both in vitro and in vivo. The medical world shows particular interest towards the introduction into the therapy of specific anti-tumoral agents (antibodies, inhibitors of growth factor receptors, antagonists of the signal transduction factors, vaccines with cells presenting with antigens) associated or not with chemotherapy.

Cancerul esofagian are un prognostic extrem de sumbru datorită diagnosticului tardiv, extensiei precoce și terenului fragil al pacienților, reprezentând a patra cauză de mortalitate prin cancer după plămân, colon și prostată. Cancerul esofagian reprezintă circa 1% dintre toate cancerurile și 6% dintre toate cancerurile gastrointestinale. În România există o incidență redusă a cancerului esofagian în comparație cu alte țări.(1) Date mai recente estimează însă pentru România 744 cazuri noi anuale (rată a incidenței de 3,1 la suta de mii de locuitori, cumulată pentru ambele sexe) și 681 de decese anuale prin cancer de esofag (rată a mortalității de 2,8 la 100.000 locuitori).

Frecvența sa a rămas constantă în ultima decadă (în ciuda scăderii numărului de canceruri epidermoide s-a înregistrat

o creștere a cazurilor de adenocarcinom) și în ciuda progreselor de tratament chirurgical și oncologic mortalitatea rămâne extrem de ridicată, în momentul descoperirii fiind în general în vârstă, tarați și malnutriți, adesea cașectici.

Peste 90% din cancerurile de esofag sunt adenocarcinoame sau canceruri epidermoide, restul fiind tumori rare: melanoame, carcinoame, sarcoame, limfoame. Drenajul limfatic particular al esofagului și absența seroasei explică metastazarea rapidă și la distanță.(2)

TRATAMENTUL CHIRURGICAL

Scopul intervenției chirurgicale oncologice pentru această boală este rezecția tumorii primare și a ganglionilor

¹Autor corespondent: Bogdan Sandolache, Str. Splaiul Independenței, Nr. 169, Sector 6 București, România, E-mail: bogdans67@yahoo.com, Tel: +40722 666308

Articol intrat în redacție în 20.05.2013 și acceptat spre publicare în 08.08.2013
ACTA MEDICA TRANSILVANICA Decembrie 2013;2(4):58-61

limfatici de drenaj reprezentând standardul de aur în tratamentul afecțiunii.

Esofagectomia

Esofagectomia reprezintă principala atitudine terapeutică, fiind o intervenție agresivă cu riscuri importante. La bolnavii cu tumoră rezecabilă, fără semne de adenopatii loco-regionale, metastaze sau contraindicații (tarele cardiorespiratorii (3) și denutriția (4)) chirurgia este prima opțiune.(5)

Alegerea tehnicii chirurgicale depinde de mai mulți factori:

- localizarea anatomică a leziunii, cea cervicală fiind grevată de dificultăți tehnice și frecvent se practică intervenții paliative, iar cele din 1/2 și 1/3 inferioară a esofagului pot beneficia mai frecvent de intervenții cu caracter curativ, cele localizate cervical sunt cancere extrem de agresive datorită bogăției rețelei limfactice cervicale;(6)
- extinderea loco-regională și la distanță a leziunii, cu stadializarea leziunilor;
- procedeul chirurgical folosit pentru refacerea tranzitului, frecvent cu stomac, mai rar cu colon, existând argumente pro și contra.

Având în vedere tendința de leziuni submucoase esofagiene, acest lucru necesită de obicei, o esofagectomie subtotală, folosind o abordare transtoracică sau transhiatală.

Abordarea transtoracică corectă se poate realiza printr-o anastomoză în toracele superior pentru tumorile mai mici, și GEJ (tehnica Ivor-Lewis), sau în gât pentru leziunile mai mari. Abordarea transhiatală evită toracotomia și plasează mereu anastomoza în gât. Rezecția esofagului distal și reconstrucția pot fi, de asemenea, abordate via partea stângă a pieptului sau prin abordarea toracoabdominală.(7)

Esofagectomia este o rezecție radicală în care o masă de țesut cu margini de 10 cm proximal și distal față de tumoră include esofagul toracic, ductul toracic, vena azygos, pericardul posterior, și țesutul moale în mediastinul posterior. Deși această abordare scumpă minimizează recurența locală, este folosită de chirurghii selectivi.

Există avantaje și dezavantaje ale fiecărei abordări. Tehnica transtoracică permite vizualizarea directă a tumorii și disecția a mai mult țesut nodal și paraesofageal. Dezavantajul acestei operații este agresiunea cardiopulmonară impusă de o toracotomie și morbiditatea crescută determinate de fistule anastomotice în torace. Abordarea transhiatală are potențialul de a minimaliza compromisul respirator, și complicațiile anastomotice sunt mai ușor de monitorizat și tratat. Dezavantajele sale sunt incapacitatea de a face o disecție completă a esofagului sau de a putea vizualiza complet tumora. Proximitatea traheei deasupra carinei, face ca rezecția completă a teritoriului să nu fie posibilă pentru T3 și rezecția în bloc a ganglionilor mediastinali superiori (paratraheali, recurențiali) este dificilă prin abord toracic.(8) Disecția radicală a ganglionilor limfatici (limfodisecție extinsă a ganglionilor mediastinali superiori) necesită o expertiză considerabilă și scăderea complicațiilor postoperatorii nu au fost dovedite.

Frecvent se folosește stomacul pentru reconstrucția esofagului. Este ușor de mobilizat, are aportul vascular excelent, și în aproape toate cazurile ajunge la gât și baza limbii. Neo esofagul poate fi poziționat transtoracic sau retrosternal. Dacă stomacul nu poate fi utilizat datorită unei gastrectomii precedente sau a unei tumori, se poate folosi colon pentru reconstrucție. Frecvent se folosește colonul stâng cu vascularizația bazată pe ramura ascendentă fiabilă a arterei colice stângi. Cu cele trei anastomoze necesare pentru refacerea continuității gastro-intestinală, morbiditatea este mai mare, dar rezultatele funcționale sunt excelente.(9)

Pacienții cu boală metastatică sau cu tumori în stadiu avansat sunt tratați cu intenție paliativă. Paliativa ar trebui mai întâi îndreptată spre ameliorarea disfagiei și obstrucției esofagiene. Acest lucru poate fi realizat în mai multe moduri, inclusiv radiații paliative, dilatarea endoscopică, stentarea endoscopică prin protezarea sub anestezie generală i.v. sau locală orofaringiană, cu plasarea unei proteze din material plastic, compozit sau un stent metalic autoexpandabil, pe ghidul unui fir metalic sub control radiologic, terapie cu laser endoscopică, sau altă terapie pe bază de lumină (de exemplu, terapie fotodinamică). Cele mai eficiente sunt stenturile metalice autoexpandabile, ele menținându-și poziția odată cu trecerea timpului și odată cu creșterea în dimensiuni a tumorii, o calitate a lor fiind menținerea lumenului permeabil. Protezele nu pot fi utilizate în cazul tumorilor localizate faringoesofagian, sau a celor de la nivelul esofagului toracic dar care realizează stenoze multiangulare, sau în cazul tumorilor esocardiale. Chimioterapia paliativă are doar un rol limitat în acest cadru și numai un impact marginal asupra supraviețuirii.

TERAPIA GENICĂ ÎN CANCER

Terapia genică implică o paletă largă de tipuri de tratament, care presupune utilizarea de material genetic pentru tratamentul cancerului.

Aplicarea ei în tratamentul clinic este în momentul de față o formă acceptată, reprezintă un proiect de interes mondial în studierea cancerului fiind totuși un tratament medical experimental în acest moment.

Această metodă a presupus elaborarea unei tehnici care să insere în genomul celulelor canceroase gene introduse prin diferite sisteme de transport sau prin alte tehnici, care să permită anularea funcției genelor implicate în carcinogeneză, sau utilizarea de material nucleic (acid nucleic: ARN sau ADN), care să influențeze sinteza de proteine. Teoretic este posibilă transformarea celulelor de tip somatic sau germinativ folosind terapia genică, atât *in vivo* cât și *in vitro*.

În practica clinică se folosește această metodă pentru inhibarea funcției anumitor gene, creșterea imunosupresiei, transferul unor gene supresoare tumorale sau pentru inactivarea oncogenelor utilizând mecanisme antisens și restaurarea genelor mutate. În practică se folosește terapia cu gene supresoare, sau cu oncogene.

Gene supresoare tumorale

Genele supresoare tumorale sunt inactivate prin modificări genetice sau epigenetice de tipul mutațiilor punctiforme, delețiilor (LOH), metilărilor promotorilor. Rolul genelor supresoare (ca Rb, p53, APC) de tumori în dezvoltările neoplazice este esențial. Acest lucru a fost dovedit prin reintroducerea unuia sau mai multor tipuri de astfel de gene în celule, în care funcția lor a fost compromisă și în care în urma acestui procedeu, procesul neoplazic a fost reținut. Experimental s-a demonstrat că prin restaurarea funcției genelor supresoare se poate obține inversarea fenotipului malign. Din acest punct de vedere, nu este surprinzător că multe tumori prezintă frecvent pierderea heterozigoției (LOH) în regiuni cromozomale specifice genelor supresoare tumorale. Pierderea heterozigoției (LOH) cauzează inactivarea majorității genelor tumorale supresoare ce au fost regăsite în regiuni cromozomiale critice (1p, 3p, 4, 5q, 9, 11, 13q, 17q și 18q).(10,11)

Responsabilă pentru dispariția semnalului apoptotic în celulele tumorale pare a fi pierderea funcției anumitor gene cu rol supresor tumoral, rezultatul fiind proliferarea malignă. Mutații ale genei supresoare p53 au fost întâlnite în multe tipuri de cancere la om, drept urmare reinocularea acestei gene p53 în celulele maligne este o modalitate terapeutică eficientă.

Sunt câteva gene care pot inhiba selectiv potențialul metastatic al celulelor canceroase, cum ar fi conexina, receptorul pentru fibronectină, caderina E sau genele nm-23.

Oncogenele

Oncogenele cele mai frecvent activate în cancerul esofagian sunt ciclina D1, c-erbB1 și 2, c-myc, c-ras, Int-2/hst-1 și EGFR. Mecanismele de activare a acestor oncogene includ: mutațiile punctiforme, amplificarea, rearanjarea și supraexpresia, dintre care amplificarea și supraexpresia fiind cele mai comune.(12)

Idealul terapiei genice direcționate spre oncogene este de a echilibra balanța dintre semnalele proliferative, prin inhibare funcției unor gene care au rolul de a menține nerestricționată proliferarea, și dintre obținerea fenotipului metastatic.

Prin folosire unor mecanisme antisens se poate obține inactivarea oncogenelor dominante activate. Aceste mecanisme antisens sunt: folosirea unor molecule mRNA antisens incluzând unele oligonucleotide care împiedică transcripția prin legarea la ADN bicatenar, având ca rezultat formarea unui triplu helix, oligonucleotide antisens care au rolul de a bloca transcripția prin legarea de alela sens. În această perioadă sunt investigate ca și ținte: inhibiția oncogenei RAS, a subunității catalitice a TERT, PTTG1. S-a dovedit mai eficientă eliberarea de ARNm antisens în interiorul unei celule canceroase decât folosirea oligonucleotidelor antisens.

Ca și metode folosite în inhibarea expresiei oncogenelor sunt:

- Expresia moleculelor sintetizate sau a anticorpilor anti-molecule care inhibă intracelular funcția oncogenelor;
- Transferul nucleotidelor antisens folosind secvențe genice scurte sau prin folosirea de ADN integral;
- Transferul ARN;

În practică se folosește activarea selectivă a prodrogurilor care odată introduse în celulele tumorale blochează anumite gene sensibile la aceste medicamente, aceste gene sunt numite și “gene suicidare”.

Terapia cu “gene suicidare” (prodrog) sau terapia prin utilizarea genelor care encodează enzime

“Genele suicidare” sunt genele care de obicei encodează o enzimă care transformă un prodrog netoxic într-o moleculă toxică care va duce la moartea celulelor în care se exprimă.

Dintre aceste gene, cele mai studiate au fost gena pentru timidinkinază a virusului Herpes simplex (HSV-TK) combinată cu Ganciclovir (GCV), și gena pentru citozindeaminază (CD) a Escherichia Coli combinată cu 5-fluorocitozină (5-FC).

Expresia unor gene proapoptotice sau citotoxice

Se poate realiza transferul selectiv al unor gene care să ducă la distrucția celulelor tumorale utilizând mecanisme specifice și fără a utiliza medicamente exogene.

Prin folosirea de liganzi specifici sau promotori care prin intermediul transferului genelor țintă sau a expresiei lor în celulele tumorale, se realizează apoptoză. Se pot obține rezultate prin obținerea anulării expresiei genelor oncogene prin intermediul ribozimelor sau folosirea terapiei imunogenice obținută prin transferul de gene pentru citokine rezultate prin vaccinare cu celule tumorale sau folosirea unor molecule costimulatoare.(13,14)

Probleme în terapia genică

Este esențial ca manipularea genică a celulelor somatice să nu se transmită și la celulele germinative, astfel realizându-se blocarea transmiterii ei la descendenți.

Probleme care au rămas nesoluționate în terapia genică până în momentul actual:

- Probleme legate de utilizarea vectorilor virali – virusurile determină o varietate de potențiale probleme pentru pacient prin toxicitate, prin activarea răspunsului imunitar și inflamator necorespunzător, prin controlul genelor și a problemelor legate de țintă, cu alte cuvinte virusurile pot induce boala.
- Tulburări multigenice – dacă un cancer este apărut prin mutații ale unei gene simple, atunci tratamentul optim este cel prin terapie genică, dar de cele mai multe ori cancerul este rezultatul mutațiilor mai multor gene, ceea ce face dificilă folosirea terapiei genice.
- Durata scurtă a acțiunii terapiei genice – consumul rapid al genei terapeutice introdusă în celula țintă cât și funcționarea ei pe o perioadă scurtă și devenirea instabilă a expresiei ei. În momentul actual aceasta ar fi una din cauzele pentru care pacienții sunt supuși mai multor ședințe succesive de terapie genică.
- Carcinogeneza – o genă care este integrată în genom într-un loc neadekvat, de exemplu o genă supresoare, atunci își poate modifica funcția și poate dobândi potențial mutagen ducând la apariția tumorilor
- Răspunsul imun – se poate declanșa o activare a sistemului imunitar care va determina o scădere a eficacității terapiei genice, chiar se poate determina o amplificarea a răspunsului la vectorii virali conducând la ineficiența terapiei genice.(13,14,15,16)

Gendicine (ro.: gendicina = virusul adeno recombinant) a fost aprobată oficial de către autoritățile chineze pentru a fi utilizată în carcinomul cu celule scuamoase ale capului și gâtului, a mai fost folosită ca experiment, în stabilirea unui studiu clinic, pentru a trata cancerul tractului digestiv (esofag, stomac, colon, ficat, pancreas, vezică biliară, rect), cancer pulmonar, sarcom, cancerul de glandă tiroidă, cancerul de sân, cancerul de col uterin, și cancerul ovarian. În plus, pacienților cu cancer avansat, cu nici o altă posibilitate de tratament, le este permis, de la caz la caz, a primi noul medicament. Utilizată în paralel cu chimioterapia și radiații, se susține că Gendicine a adăugat ani la viața pacienților și simultan le-a îmbunătățit calitatea vieții. Terapia genetică este un tip de tratament care are ca scop manipularea unor gene specifice în celulele unui pacient. În unele forme de cancer, de exemplu, o anumită genă tumorală supresoare numită P53 este adesea considerată a fi defectă. În timpul terapiei genetice, forme fabricate ale genei normale sunt reintroduse în celulele tumorale ale pacientului, cu scopul de a corecta deficiența și de a restabili funcția celulară la normal. În aproximativ jumătate din toate tumorile umane, această genă tumorală supresoare crucială este modificată (mutantă) și nu își poate desfășura activitatea sa normală de a reține creșterea canceroasă.

Gendicine este formată din două componente:

1. Gene P53 care funcționează normal
2. Un adenovirus transportator sau „vector” care transportă această P53 în celulele canceroase.

Gendicine în sine combină o genă numită P53, care suprimă formarea de tumoare, cu un virus comun modificat. Când produsul este injectat într-o tumoare, virusul poartă gena în celulele canceroase. Gena apoi solicită celulelor tumorale să se sinucidă.

Advexin. Asemănare între Gendicine și Advexin este că ambele țintesc gena P53. Gena P53 se presupune că induce moartea celulelor atunci când celulele încep să se supra-multiplice. În multe tipuri de cancer, P53 se oprește, și astfel rezultă tumori.

Compania producătoare de Advexin a anunțat recent rezultate pozitive de fază a IIa. Ei au observat că pe un lot de pacienți cu cancer de cap și gât luați în studiu, o parte au răspuns la administrarea de Advexin cu o reducere a dimensiunilor tumorilor la peste jumătate, fapt ce a contribuit la o creștere a valorii medii a supraviețuirii de la 6 luni fără tratament la 41 de luni după tratament. Concluziile lor au fost că și la pacienții la care răspunsul la tratament privind scăderea în dimensiuni a tumorii este mai mic, totuși a fost îmbunătățită supraviețuirea medie.

Studiile recente cercetează gena P73. *GRAMD4* mimica P53 și mediază funcția apoptotică a P73 la mitocondrii P73, membră a familiei P53, împarte mari secvențe de omologie cu P53 și arată multe proprietăți asemănătoare P53: ea se leagă de site-uri țintă P53-ADN, transactivează gena receptivă P53 și induce oprirea ciclului celular și apoptoza. În afară de acest efect de transcriere-dependent, mai puțin se știe despre mecanismele în aval prin care P73 controlează soarta celulelor la mitocondrii. Apoptoza P73-indusă este mediată de exprimarea GRAMD4 și translocată la mitocondrii. Această proteină interacționează fizic cu Bcl-2, promovează relocalizarea și oligomerizarea mitocondrială Bax, și este foarte eficientă în inducerea permeabilizării membranei mitocondriale cu eliberarea citocromului c și Smac. Excesul de P73a și izoformei P73β, dar nu P53, duce direct la transactivarea promoterei GRAMD4. GRAMD4 induce schimbări în Bcl-2 și în nivelurile de proteine Bax. Transcrierea GRAMD este activată ca răspuns la cisplatină (cDDP) într-un mod dependent de P73 endogen. Folosind xenogrefe tumorale solide, expresia ectopică a GRAMD4 împreună cu cDDP a dus la uciderea avansată de cancer. P73 este capabilă de a declanșa apoptoza pe calea mitocondrială printr-un mecanism nou folosind GRAMD4 pro-apoptotic ca mediator, și susținând cu tărie funcția sa asemănătoare P53-ului.

Concluzii:

1. Chirurgia esofagului prezintă dificultăți tehnico-tactice deosebite, comparativ cu alte organe, datorită poziției sale greu accesibilă și a raporturilor cu organe vitale precum și din cauza necesității mobilizării viscerelor abdominale pentru reconstrucția lui, esofagectomia cu sau fără limfadenectomie asociată cu chimioradioterapia fiind soluția terapeutică optimă.
2. Alegerea tehnicii chirurgicale depinde de mai mulți factori, localizarea anatomică a leziunii, cea cervicală fiind grevată de dificultăți tehnice și frecvent se practică intervenții paliative iar cele din 1/2 și 1/3 inferioară a esofagului pot beneficia mai frecvent de intervenții cu caracter curativ, extinderea loco-regională și la distanță a leziunii, procedeu chirurgical folosit pentru refacerea tranzitului, frecvent cu stomac, mai rar cu colon, existând argumente pro și contra și nu în ultimul rând de contraindicații (tarele cardiorespiratorii și denutriția).
3. Chimioradioterapia preoperatorie poate determina o creștere a rezecabilității, fără modificarea mortalității și morbidității operatorii, rata recidivelor la distanță fiind considerabil redusă prin chimio-radioterapi neoadjuvantă, dar recidiva locală a rămas nemodificată.
4. Pentru a descoperi mecanismul fundamental în carcinogeneza esofagiană, trebuie să se cunoască gradul de exprimare al multor gene, incluzând genele implicate în apoptoză, genele implicate în proliferarea celulară, genele implicate în degradarea și repararea ADN și genele implicate în transmiterea semnalului în neoplasmele esofagiene astfel încât să putem realiza diagnosticarea și

tratarea timpurie a cancerului esofagian cu reducerea ratei mortalității.

5. Terapia genică reprezintă un proiect de interes mondial în studierea cancerului esofagian pe care se va baza tratamentul în viitor al cancerului asociată cu cea clasică. Acum, rezultatele folosirii ei au fost promițătoare, au dus la o creștere a supraviețuirii și a calității vieții pacienților la care s-a folosit tratamentul obținut prin inginerie genetică urmând să se caute și să se descopere markeri moleculari valoroși sau gene în corelație cu cancerul esofagian.

REFERINȚE

1. European Cancer Observatory web site; 2008.
2. Constantinou S, Mates IN. Carcinomul scuamos esofagian. În: *Tratat de chirurgie*, vol. 8, partea A, sub red. Popescu I. București: Ed. Academiei Romane; 2008.
3. Law SY, Fok M, Wong J. Risk analysis in resection of squamous cell carcinoma of the esophagus. *World J Surg*; 1994.
4. Peters JH, DeMeester TR. Esophagus and diaphragmatic hernia. In: *Principles of Surgery*, Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, editors. Ed. McGraw-Hill; 1994.
5. Skinner DB, Little AG, Ferguson MK, Soriano A, Starzak VM. Selection of operation for esophageal cancer based on staging. *Ann Surg*; 1986.
6. Orringer MB, Marshall B, Stirling MC. Transhiatal esophagectomy for benign and malign disease. *J Thorac Cardiovasc Surg*; 1993.
7. Liebermann-Meffert DM, Luescher U, Neff U, Ruedi TP, Allgower M. Esophagectomy without thoracotomy: is there a risk of intramediastinal bleeding? A study on blood supply of the esophagus. *Ann Surg*; 1987.
8. Peracchia A, Bonavina L, Botturi M, Pagani M, Via A, Saino G. Current status of surgery for carcinoma of the hypopharynx and cervical esophagus. *Dis Esophagus*; 2001.
9. Johansson J, DeMeester Tr, Hagen JA, DeMeester SR, Peters JH, Oberg S, et al. En bloc vs transhiatal esophagectomy for stage T3 N1 adenocarcinoma of the distal esophagus. *Arch Surg*; 2004.
10. Skinner DB. En bloc resection for neoplasms of the esophagus and cardis. *J Thorac Cardiovasc Surg*; 1983.
11. Hagen JA, Peters JH, DeMeester TR. Superiority of extended en bloc esophagogastrectomy for carcinoma of the lower esophagus and cardia. *J Thorac Cardiovasc Surg*; 1993.
12. <http://www.almanahmedical.eu/inpage/factorul-genetic-in-cancer/>.
13. [http://www.news-medical.net/health/What-is-Gene-Therapy-\(Romanian\).aspx](http://www.news-medical.net/health/What-is-Gene-Therapy-(Romanian).aspx).
14. [http://www.umfiasi.ro/Rezidenti/suporturidecurs/Facultatea %20de%20Medicina/Oncologie/oncologie%20medicale-%20tematica%20curs%20rezidenti/18%20Terapia%20geni ca.pdf](http://www.umfiasi.ro/Rezidenti/suporturidecurs/Facultatea%20de%20Medicina/Oncologie/oncologie%20medicale-%20tematica%20curs%20rezidenti/18%20Terapia%20geni ca.pdf).