

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***HELICOBACTER PYLORI* VE EPSTEIN BARR VİRÜSÜ İLİŞKİLİ
GASTRİK KARSİNOMLARIN p73 EKSPRESYON PROFİLİ VE
KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu GÜL

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK

TEMMUZ 2019

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***HELICOBACTER PYLORI* VE EPSTEIN BARR VİRÜSÜ İLİŞKİLİ
GASTRİK KARSİNOMLARIN p73 EKSPRESYON PROFİLİ VE
KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Burcu GÜL
(175309002)**

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK

TEMMUZ 2019

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 175309002 numaralı Yüksek Lisans Burcu GÜL, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “*HELICOBACTER PYLORI* VE EPSTEIN BARR VİRÜSÜ İLİŞKİLİ GASTRİK KARSİNOMLARIN p73 EKSPRESYON PROFİLİ VE KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Zeynep SÜMER**
Cumhuriyet Üniversitesi

Doç. Dr. Zühal GÜCİN
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Teslim Tarihi :
Savunma Tarihi :



Sevgili aileme ve değerli Adile'ye,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmam sürecinde benden desteğini esirgemeyen ve bu zorlu süreçte her zaman bana vakit ayırıp her koşulda yardım eden çok değerli sevgili hocam sayın Prof. Dr. Semra Özçelik'e, çok büyük saygı ve sevgi duyduğum Patoloji Anabilim Dalı başkan hocam sayın Prof. Dr. Dilek Sema Arıcı'ya, yüksek lisansım boyunca maddi manevi yardımlarını esirgemeyen, her türlü zorlu sürecimde ve tezimin her alanında yanımda olup yardım eden çok sevdiğim hocam sayın Doç. Dr. Zuhâl Gücin'e, tez çalışmamda, konunun belirlenmesinde ve tamamlanmasında yardım ve desteğini cömert bir şekilde sunan sayın Uzm. Dr. Melin Özgün Geçer'e, bana sonsuz desteğinden dolayı sevgili hocam sayın Doç. Dr. Nur Büyükpınarbaşı'ya, tezimin başından sonuna kadar bu zorlu süreçte hiçbir yardımını esirgemeyen, bilgi ve becerilerini aktaran, ne zaman yardıma ihtiyaç duysam hep yanımda olan çok sevgi duyduğum değerli arkadaşım Asistan Dr. Adile Adıllı'ya tez çalışmam boyunca benden bilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve hep destek olan sevgili ve değerli arkadaşlarım Asistan Dr. Anı Toklu, Asistan Dr. Büşra Coşanay Tekden, Asistan Dr. Zeynep Sezal ve Asistan Dr. Hacer Kundakçıoğlu'na tez yazım boyunca bilgi ve desteğini esirgemeyen değerli Asistan Dr. Samet Yığman'a, bu zorlu süreçte teknik ve manevi desteklerinden ötürü sevgili tekniker arkadaşlarım Muhammed Bilgin, Baset Sığircı, Kübra Aydın, Sümeyye Ekmekçi, Olcay Taşkiran ve Sena Kocabaş'a, teknik desteklerinden ötürü sevgili öğrencilerimiz Büşra Demir, Azad Polat ve Emre Dinç'e çalışma hayatım boyunca bana her alanda destek olan Bezmialem Vakıf Üniversitesi Patoloji bölümünde bulunan tüm sayın Dr. hocalarıma, istatistiksel analiz için sayın Uzm. Dr. Cemal Koçak'a, hayatım boyunca beni maddi ve manevi her konuda koşul gözetmeksizin destekleyen, sevgilerini, ilgilerini hep hissettiğim, zor zamanlarımı aşmamı sağlayan anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 3.2018/7 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Temmuz 2019

Burcu GÜL
(Biyolog)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Burcu GÜL
İmza

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR.....	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kanser Nedir?.....	3
2.2 Mide	5
2.2.1 Embriyoloji	5
2.2.2 Mide anatomi ve fizyolojisi	5
2.2.3 Mide histolojisi.....	9
2.2.4 Epidemiyoloji ve Etyoloji	11
2.2.5 Midenin tümör dışı hastalıkları	12
2.2.6 Non neoplastik değişiklikler	12
2.2.7 Midenin enfeksiyöz hastalıkları	16
2.2.8 Midenin tümör öncü lezyonları	18
2.2.9 Midenin tümörleri	19
2.2.10 Tümörün makroskopik sınıflandırılması.....	22
2.2.11 Mide kanserlerinde evreleme	22
2.2.12 Mide kanserinde tanı ve tedavi	24
2.3 <i>Helicobacter pylori</i>	25
2.3.1 Genel bilgiler.....	25
2.3.2 <i>Helicobacter pylori</i> saptama yöntemleri	28
2.3.3 Tedavi.....	31
2.4 Epstein Barr Virüsü.....	31
2.4.1 Tarihçe.....	31
2.4.2 Sınıflandırma.....	31
2.4.3 Yapısı ve özellikleri	31
2.4.4 Patogenezi	35
2.4.5 EBV ilişkili hastalıklar	36
2.4.6 Epidemiyoloji.....	38
2.4.7 Tanı ve Tedavi.....	38
2.5 p73 Geni	39
3. MATERYAL VE METOD.....	41
3.1 EBER.....	41
3.1.1 Kullanım amacı	41

3.1.2 Kitin prensibi.....	42
3.1.3 Kullanılan malzemeler	42
3.1.4 Örnek hazırlama	42
3.1.5 Kalite kontrol prosedürleri	43
3.1.6 Sonuçların yorumlanması.....	44
3.2 P73.....	44
3.2.1 Kullanım amacı	44
3.2.2 Kitin prensibi.....	45
3.2.3 Kullanılan malzemeler	45
3.2.4 Örnek hazırlama	46
3.2.5 Kalite kontrol prosedürü	46
3.2.6 Sonuçların yorumlanması.....	47
3.2.7 İstatiksel analiz.....	47
4. BULGULAR VE SONUÇ.....	49
5. TARTIŞMA	66
KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	78



KISALTMALAR

AJCC	: Amerikan Kanser Komitesi
Cag A	: Sitokin İlişkili Gen A
Cag PAI	: Cag Patogenez Adacığı
CDK	: Siklin Bağımlı Kinaz
CEA	: Karsinoembriyojenik Antijen
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EA	: Erken Antijen
EA-D	: Erken Antijen-Diffüz
EA-R	: Erken Antijen Restricted
EBV	: Epstein Barr Virüs
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
EM	: Enfeksiyöz Mononükleoz
G	: Grade
Grade 1	: Grade 1
Grade 2	: Grade 2
GİS	: Gastro İntestinal Sistem
GK	: Gastrik Karsinom
H&E	: Hematoksilen-Eozin
<i>H.pylori</i>	: Helicobacter pylori
HCA	: Hierarchical Cluster Analysis
HpSA	: Stool Antijen
IgA	: İmmüoglobülin A
IgG	: İmmüoglobülin G
IgM	: İmmüoglobülin M
IHK	: İmmünohistokimya
INOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
İM	: İntestinal Metaplazi
ISH	: In-situ hibridizasyon
KbP	: Kilobaz Çifti
MA	: Membran Antijenleri
MALT	: Mukoza İlişkili Lenfoid Doku
MHC II	: Majör Histokompatibilite Kompleksi II
MP	: Membran Proteini
NET	: Nöroendokrin Tümör
NO	: Nitrik Oksit
OMP	: Diğer Membran Proteinleri
ORF	: Açık Okuma Bölgesi
PAS-AB	: Periyodik asit-Schiff Alcian Blue
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PPI	: Proton Pompa İnhibitörü
RES	: Retikulo Endotelyal Sistem
RIBA	: Rekombinant İmmunoblot Testi
RNA	: Ribonükleik Asit

TNM	: Tümör, Lenf Nodu, Metastaz durumu evreleme sistemi
UICC	: Uluslararası Kanser Savaş Örgütü
VacA	: Vakuol Oluşturma Sitotoksin Geni
VCA	: Viral Kapsid Antijeni
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü



TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 : WHO 2010, mide tümörleri sınıflandırması.	20
Tablo 2.2 : TNM evreleme.	23
Tablo 2.3 : UICC'ye göre TNM sınıflaması.	24
Tablo 4.1 : Hasta grubunun tanımlayıcı özellikleri	50
Tablo 4.2 : Hasta grubunda yaş ve tümör çapı ölçümlerine ait tanımlayıcı değerler	51
Tablo 4.3 : Hasta ve kontrol gruplarının p73 yoğunluğu açısından karşılaştırılması.	51
Tablo 4.4 : Hasta ve kontrol gruplarının <i>H. pylori</i> pozitifliği açısından karşılaştırılması.	52
Tablo 4.5 : Hasta ve kontrol gruplarının ebv pozitifliği açısından karşılaştırılması.	53
Tablo 4.6 : Hasta grubunda tümör evrelerine göre p73 yoğunluğu.	54
Tablo 4.7 : Hasta Grubunda Lauren Tümör Evrelerine Göre p73 Yoğunluğu.	55
Tablo 4.8 : Hasta grubunda EBV Varlığına Göre p73 Yoğunluğu.	56
Tablo 4.9 : Hasta grubunda lenfatik invazyon varlığına göre p73 yoğunluğu.	56
Tablo 4.10 : Hasta grubunda kan damarı invazyonu varlığına göre p73 yoğunluğu.	57
Tablo 4.11 : Hasta grubunda perinöral invazyon varlığına göre p73 yoğunluğu.	57
Tablo 4.12 : Hasta grubunda pleksus invazyonu varlığına göre p73 yoğunluğu.	58
Tablo 4.13 : Hasta grubunda lenf nodu tutulumu varlığına göre p73 yoğunluğu.	58
Tablo 4.14 : Hasta grubunda <i>H.pylori</i> varlığına göre p73 yoğunluğu.	59
Tablo 4.15 : Hasta grubunda EBV varlığına göre p73 yoğunluğu.	60
Tablo 4.16 : Cinsiyet grupları arasında p73 yoğunluğunun karşılaştırılması.	61
Tablo 4.17 : Tüm katılımcılarda <i>H.pylori</i> varlığına göre p73 yoğunluğu.	62
Tablo 4.18 : Tüm katılımcılarda EBV varlığına göre p73 yoğunluğu.	63

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: Midenin bölümleri.....	6
Şekil 2.2	: Mide mukozası.....	9
Şekil 2.3	: Metaplazi x200 H&E.....	14
Şekil 2.4	: İntestinal metaplazi x100 H&E.....	14
Şekil 2.5	: İntestinal metaplazi x100 PAS-AB.....	15
Şekil 2.6	: İntestinal metaplazi x200 PAS-AB.....	15
Şekil 2.7	: Gastrit x100 H&E.....	17
Şekil 2.8	: Gastrit x400 H&E.....	17
Şekil 2.9	: Displazi x200 H&E.....	18
Şekil 2.10	: Displazi x200 p53.....	19
Şekil 2.11	: <i>Helicobacter pylori</i>	26
Şekil 2.12	: <i>H.pylori</i> ve EBV'nin hastalık oluşum şeması.....	27
Şekil 2.13	: <i>H.pylori</i> 'nin hastalık oluşturma döngüsü [77].....	28
Şekil 2.14	: <i>H.pylori</i> Giemsa boyası x400.....	30
Şekil 2.15	: EBV'nin şematik görüntüsü.....	32
Şekil 2.16	: EBV genomu [108].....	33
Şekil 2.17	: EBV'nin yaşam döngüsü.....	35
Şekil 2.18	: EBER x200 FISH.....	37
Şekil 2.19	: EBER x400 FISH.....	37
Şekil 2.20	: p73 antikoru x200 İHK.....	40
Şekil 4.1	: Hasta ve kontrol gruplarının <i>H. pylori</i> pozitifliği dağılımları.....	52
Şekil 4.2	: Hasta ve kontrol gruplarının EBV pozitifliği dağılımları.....	53
Şekil 4.3	: Lauren evrelerinin p73 yoğunluğu dağılımları.....	55
Şekil 4.4	: Hasta grubunda <i>H. pylori</i> varlığına göre p73 dağılımları.....	59
Şekil 4.5	: Hasta grubunda EBV varlığına göre p73 dağılımları.....	60
Şekil 4.6	: Hasta grubunda EBV varlığına göre p73 dağılımları.....	61
Şekil 4.7	: Tüm katılımcılarda <i>H. pylori</i> varlığına göre p73 dağılımı.....	62
Şekil 4.8	: Tüm katılımcılarda EBV varlığına göre p73 dağılımı.....	63
Şekil 4.9	: Hasta grubunda p73 gruplarında tümör çaplarına ait kutu-çizgi grafiği.....	64
Şekil 4.10	: Hasta grubunda p73 gruplarında yaş dağılımlarına ait kutu-çizgi grafiği.....	65

HELICOBACTER PYLORI VE EPSTEIN BARR VİRÜSÜ İLİŞKİLİ GASTRİK KARSİNOMLARIN p73 EKSPRESYON PROFİLİ VE KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

ÖZET

Mide kanseri dünyada en sık görülen kanserlerden biri olup kanserle ilişkili ölümlerde üçüncü sırada yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gastrik adenokarsinomun birincil nedeni olarak *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) enfeksiyonunu göstermiştir. Epidemiyolojik çalışmalar ve bir çok meta analiz *H.pylori* enfeksiyonu ile mide kanseri arasında güçlü bir korelasyon saptamıştır. Yine yapılan çalışmalarda Epstein Barr virüsü (EBV) ilişkili gastrik karsinomlar %5-10 arasında bulunmuştur. P73 tümör baskılayıcı aday bir gen olduğu üzerinde durulmaktadır. Bu çalışmada; gastrik kanserli hastalarda, *H. pylori* ve EBV pozitif ve negatif tümör dokuları arasında p73 gen ekspresyon durumlarının karşılaştırılması ve bu değişimlerin, hastalara ait klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda mide kanserli 111olgu ile, kansersiz 110 olgu ele alındı. Kanserli olgular total ya da subtotal gastrektomi materyallerinden, kansersiz olgular ise mide küçültme operasyonu uygulanmış sleeve gastrektomi materyallerinden oluşmakta idi.

Hastalara ait demografik veriler ile tümörlere ait histopatolojik veriler ve tümör evrelemesi ile ilgili sonuçlar hastane kayıt sistemi ve patoloji raporlarından elde edildi. Arşivdeki lamalar üzerinden olgular *H.pylori* yönünden tekrar değerlendirildi. Uygun görülen bloklar seçilerek yapılan kesitlere immünohistokimyasal (İHK) olarak p73, EBV varlığı için de in-situ hibridizasyon (ISH) yöntemi ile EBER uygulandı.

Olguların %68,5'i erkek, %31,5'i kadındır. Erkeklerde en küçük yaş 37, kadınlarda 34'dür. Tümör yerleşimi %54,1 ile en sık distal bölge, %45,9 ile de proksimal yerleşimlidir. Tümörler %72,1 diffüz tipteyken, %27,9 intestinal tiptedir. Tümör evreleri incelendiğinde %15,3'ünün evre I, %12,6'sının evre II, %65,8'inin evre III ve %6,3'ünün evre IV olduğu görülmüştür. %36,9 hastada *H. pylori* ve %7,2 hastada EBV pozitifdir. İnvazyon durumlarına bakıldığında tümörlerin %75,7 lenfatik, %56,1 kan damarı, %73,5 perinöral ve %37,0 pleksus invazyonu yaptıkları görülmüştür. %81,9 lenf nodu tulumu vardır. Hasta ve kontrol grubu arasında p73 yoğunluğu açısından anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Ancak EBV ve *H.pylori* varlığının p73 yoğunluğu ile anlamlı bir farklılık oluşturmadığı gözlenmiştir. Diğer taraftan, kan

damarı invazyon varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark saptanırken diğer parametrelerle anlamlı fark belirlenememiştir. Tümör yerleşim yerine göre p73 yoğunluğu açısından da anlamlı fark saptanamamıştır. Cinsiyetler arasında yaş ve tümör çapı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

p73 geninin gastrik karsinomlarda aday bir tümör süpresör gen olduğu belirtilmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, normal mide dokularında saptanmazken, mide karsinomu gelişiminde p73 gen ürünü olan bu proteinin etkili

olduğunu göstermiştir. Ancak bulgularımız EBV ve *H.pylori* varlığının gastrik kanserlerde p73 salınımını arttırdığını yeterli düzeyde ortaya koyamamıştır.

Olgu sayısının arttırılması ve diğer aday tümör süpresör genlerin de araştırılması bu alanda yapılabilecek ileri çalışmaları gerektirmektedir.

Anahtar kelimeler: Gastrik karsinom, mide kanseri, *Helicobacter pylori*, Epstein Barr virüsü, p73.



THE RELATIONSHIP BETWEEN *HELICOBACTER PYLORI* AND EPSTEIN BARR VIRUS-ASSOCIATED GASTRIC CARCINOMAS WITH p73 EXPRESSION PROFILE AND CLINICOPATHOLOGICAL PARAMETERS

SUMMARY

Gastric cancer is one of the most common cancers in the world and is ranked third in cancer related deaths. The World Health Organization (WHO) showed *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection as the primary cause of gastric adenocarcinoma. Epidemiological studies and a lot of meta-analysis have detected a strong correlation between *H. pylori* infection and gastric cancer. In studies, gastric carcinomas associated with Epstein Barr virus (EBV) were found to be between 5-10%. P73 tumor suppressor is focused on the candidate is a gene. In this study; In patients with gastric cancer, it was aimed to compare the conditions of p73 gene expression between *H. pylori* and EBV positive and negative tumor tissues and to investigate the relationship of these changes with clinical and pathological properties of patients.

In our study, with gastric cancer 111cases, 110 cases with no cancer were discussed. Cancer cases consisted of total or subtotal gastrectomy materials, and cancer-free cases were composed of sleeve gastrectomy materials with gastric reduction operation.

Demographic data of patients and histopathologic data of tumors and tumor staging results were obtained from the hospital registration system and pathology reports. The cases were re-evaluated in the direction of *H. pylori* through the slides in the archive. In-situ hybridization (ISH) method of p73 as Immunohistochemical (IHK) was performed by selecting the appropriate blocks, and EBER was applied to the EBV.

68.5% of the cases were male and 31.5% were female. The youngest age is 37 years for males and 34 years for females. Tumor localization is the most common distal region with 54.1% and proximal with 45.9%. Tumors were 72.1% diffuse type, 27.9% intestinal type. When tumor stages were examined, it was seen that 15.3% were stage I, 12,6% were stage II, 65.8% were stage III, and 6.3% were stage IV. *H. pylori* was positive in 36.9% and EBV in 7,2%. When the invasion status was examined, it was seen that 75.7% lymphatic, 56,1% blood vessel, 73.5% perineural and 37.0% plexus invasion were performed. There are 81.9% lymph node overalls. A significant difference was found between the patient and control groups in terms of

p73 density. However, the presence of EBV and *H.pylori* did not differ significantly with p73 concentration. On the other hand, there was a significant difference in p73 density according to the presence of blood vessel invasion, but there was no significant difference with other parameters. There was no significant difference in p73 density according to tumor location. There was no statistically significant difference between genders in terms of age and tumor diameter.

The p73 gene is reported to be a candidate tumor suppressor gene in gastric carcinomas. The findings of our study showed that this protein, which is the product

of p73 gene, is effective in the development of gastric carcinoma, while it is not detected in normal stomach tissues. Our findings, however, did not adequately demonstrate that the presence of EBV and *H.pylori* increases p73 release in gastric cancers. Increasing the number of cases and investigating other candidate tumor suppressor genes requires further studies in this field.

Keywords: Gastric carcinoma, gastric cancer, *Helicobacter pylori*, Epstein Barr virus, p73.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mide kanseri dünyada en sık görülen kanserlerden biridir [1]. Genetik ve çevresel faktörler ve bazı enfeksiyonlar mide kanseri etyolojisinde yer almaktadır [2-5]. Erkeklerde görülme sıklığı kadınlarda görülme sıklığından fazladır ve ilerleyen yaşlarda görülme sıklığının daha fazla olduğu saptanmıştır [6-7]. Mide kanseri 1980'lere kadar dünyada kanser ölümlerinin önde gelen nedeni iken, son birkaç on yılda görülme oranı hızla azalmıştır. Azalmanın önemli nedeni *H.pylori*, diğer diyet ve çevresel riskler gibi buna sebep olan bazı faktörlerin anlaşılması nedeniyle olabilir [6-10].

Mide adenokarsinomu enfeksiyöz ajanların önemli bir etyolojik bir role sahip olduğunun kabul edildiği birkaç malign neoplaziden biridir [11-12]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1994 yılında gastrik adenokarsinomun birincil nedeni olarak *H.pylori* enfeksiyonunu göstermiştir [13]. Epidemiyolojik çalışmalarda ve birçok meta analizde *H.pylori* enfeksiyonu ile mide kanseri arasında güçlü bir korelasyon saptanmıştır [5]. Mide kanseri başlangıcında *H.pylori* rolünü açıklamak için birçok hipotez ileri sürülmüş, ancak kesin mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. *H.pylori* enfeksiyonuna sekonder proinflamatuvar hücrelerin ürettiği indüklenebilir nitrik oksit sentaz'ın (INOS) yaptığı oksidatif stres sonucunda karsinogenez prosesinin başladığı ileri sürülmektedir. Nitrik oksit hem mutajenik ve hem de normal epitel hücrelerinin sitoplazmasında tespit edilmiştir (Şekil 2.13, Şekil 2.14) [14,15].

Yapılan çalışmalarda EBV ile gastrik kanser ilişkisinin %5-10 oranında olduğu saptanmıştır. Kanser gelişiminde rolü olduğu gösterilen bazı moleküllerdeki genetik değişimler hastalık tanı, tedavi ve seyrinin takibinde belirleyici olarak kullanılabilir [16-18]. Gastrik kanserlerde ise, tümör supresör genlerde meydana gelen birçok genetik değişim tam açıklanamamış olup araştırılması devam etmektedir. p73 geninin nöroblastom için aday bir gen olduğu fikri yapılan çalışmalarda desteklenirken, diğer tümörlerde doğası tam belirlenmemiştir [19-21]. Bu nedenle sunulan bu çalışmada; *H.pylori* ve EBV pozitif ve negatif gastrik kanserli hastalarda tümör dokuları arasında p73 geni ekspresyon düzeyi değişimlerinin

belirlenmesi ve bu değişimlerin, hastalara ait klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisinin saptanması amaçlanmıştır [19-21].



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kanser Nedir?

Sağlıklı vücut hücrelerinin belli bir kontrol altında, ihtiyaca göre bölünerek çoğalma yeteneği vardır. Hücreler, bir taraftan apoptoz (programlı ölüm) denilen olay ile yok olurken, diğer taraftanda büyüme faktörlerinin etkisi ile çoğalırlar. Normal hücreler bölünebilme yeteneğini, ölen hücrelerin yenilenmesinde ve yaralanmalar sonucu zarar gören dokuların onarılmasında kullanır. Kanser hücreleri ise durma bilincini kaybederek kontrolsüzce çoğalır. Biriken kanser hücreleri tümör dokusunu oluşturur. Tümör dokusu normal dokuları tahrip ederek büyürken tümör hücreleri köken aldığı dokudan uzak bölgelere göç edebilirler. Gittikleri yerlerde tümör oluşturmaya devam ederek büyür. Buna metastaz adı verilir [22-25].

Kanser hücreleri normal hücrelerin sahip olmadığı pek çok özelliğe sahiptir. Kanser hücresi yüzeyindeki reseptörler daha sık sinyal alır, kontrolsüz çoğalmayı sağlayan kendi sistemleri vardır, gerekli besin ve oksijeni almak için yeni damar sistemi oluşturabilirler (anjioenez). Telomerleri sabitleyerek sonsuz şekilde çoğalabilirler. Dolaşım sistemi aracılığı ile uzak yerlere gidip yerleşerek kanserleşmeyi başlatabilirler (metastaz). Apoptozdan kaçabilirler, genetik ve epigenetik olarak sabit değillerdir [23]. Karsinogenezde yer alan genetik değişiklikleri beş önemli grupta toplayabiliriz [33].

Onkogenler; büyüme faktörleri DNA'daki çeşitli genlerin ürünleri olan proteinlerdir. Bu genler değişime uğrayarak (mutasyon) hücrelerin aşırı büyümesine sebep olursa, kanser oluşur ve buna sebep olan bu genlere de onkogen denir. Büyüme faktörleri, büyüme faktörü reseptörleri, hücre içi sinyal ileten proteinler, nükleer transkripsiyon proteinleri, siklinler ve siklin bağımlı kinazlar gibi hücre siklus proteinlerini kodlayan genler bunlara örnek gösterilebilir [33].

Onkogenler kansere neden olurken, anti-onkogenler kanseri önleyen genlerdir. Bu genlere tümör baskılayıcı genler (supresör) de denmektedir[23,24,26,27]. p53, Rb,

BRCA-1, BRCA-2, WT-1, p16, NF-1, NF-2 genleri iyi bilinen tümör süpresör gen örnekleridir [33].

Programlı hücre ölümünü düzenleyen genler karsinogenezde yer alan önemli genlerden bir diğer grubu oluşturur. Bcl-2, bax, bad, bcl-xS ve bcl-xL gibi [33].

DNA hasarını düzenleyen genler: Normal hücreler DNA hasarını tamir ederek veya hücreyi apoptoza yönlendirerek mutasyonlu hücrelerin çoğalmasının önüne geçerler. Bu mekanizmanın bozulması tümör oluşumunda rol oynar. MLH1, MSH2, PMS1, PMS2 genleri DNA'da hatalı eşleşmeyi onarıcı olarak bilinen genlerdir [33].

Kromozomların son kısımlarında yer alan ve her hücre bölünmesinde bir miktar kısalan telomer denilen özel yapılar bulunur. Bu yapılar belli bir kısalığa ulaştınca hücre bölünmesi durur. Buna hücre yaşlanma denir. Telomer kısalması tümör süpresör mekanizmalardan biri olarak kabul edilir. Telomeraz enzimi ise telomer uzunluğunu sabit tutmaya çalışır. Kanserli hücrede telomeraz enzimi reaktif olarak hücrenin bölünme kapasitesi korunmuş olur. Tümör oluşumunun mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir [33].

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2018 yılında yayınladıkları verilerde 18.1 milyon yeni vaka bildirilirken, 9.6 milyon kişinin kanserden hayatını kaybettiği belirtilmiştir. Dünya çapında her 5 erkekte birinde ve her 6 kadından birinde yaşamları boyunca kanser geliştiği saptanmıştır. Ayrıca kanser olan her 8 erkekte biri ve her 11 kadından birinin kanser nedeniyle yaşamını yitirdiği bildirilmiştir. Yine aynı verilerde akciğer ve meme kanseri görülme sıklığı açısından birinci ve ikinci sırada yer alırken (%11,6), kolorektal kanserler 1.8 milyon vaka ile (%10,2) üçüncü sırada, prostat kanseri 1.3 milyon vaka ile (%7,1) dördüncü ve mide kanseri 1 milyon vaka ile (%5,7) beşinci sırada yer almaktadır. Kanser ile ilişkili ölümlerde ise; akciğer kanseri kötü prognoz yüzünden 1.8 milyon vaka ile (%18,4) birinci iken, kolorektal kanser 881.000 vaka ile (%9,2) ikinci, mide kanseri 783.000 vaka ile (%8,2) üçüncü, karaciğer kanseri 782.000 vaka ile (%8,2) dördüncü ve meme kanseri 627.000 vaka ile (%6,6) beşinci sırada yer almaktadır [1].

2.2 Mide

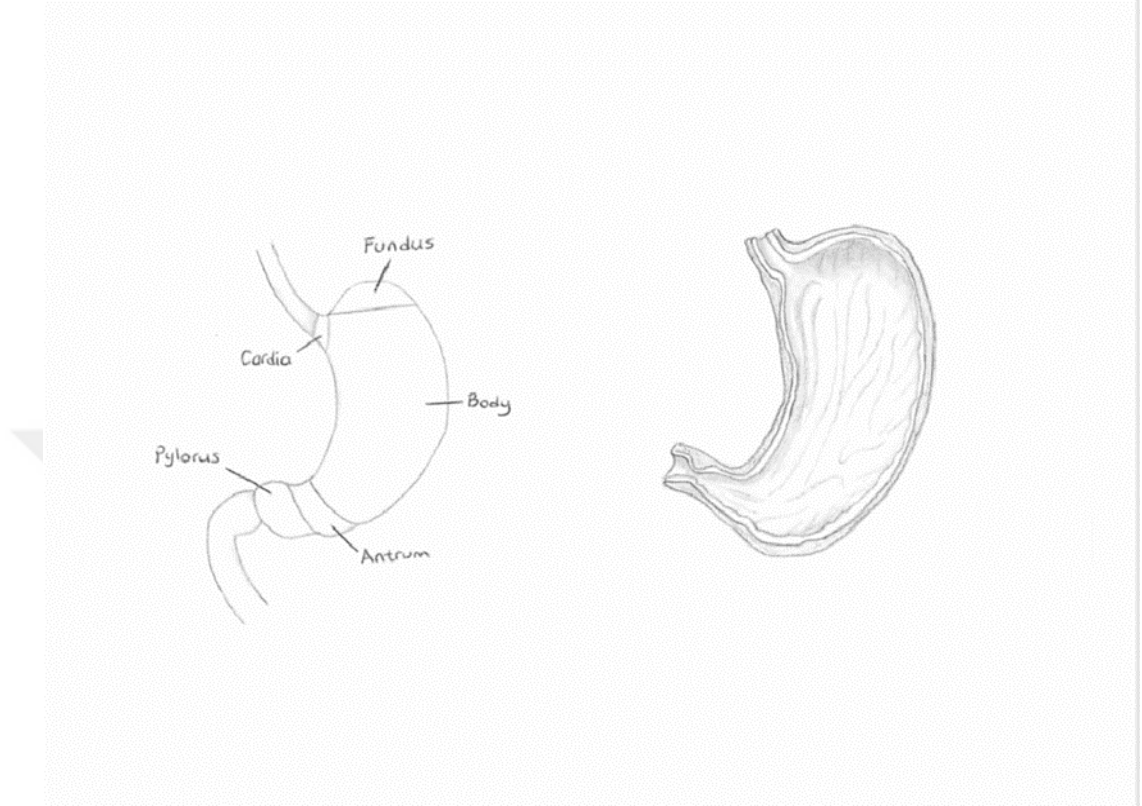
2.2.1 Embriyoloji

İntrauterin 4. haftada ön barsak, orta hatta fusiform olarak genişleyerek mide şekillenmeye başlar. Mide gelişip büyürken uzun eksenini etrafında saat yönünde 90 derecelik bir dönüş yapar. Rotasyon esnasında midenin arka duvarı olarak tanımlanan kısmı, ön duvar olarak tanımlanan kısmından daha hızlı büyür. Bu durum ise, büyük ve küçük kurvaturaların oluşumu ile sonuçlanır. Ayrıca bu dönüşle midenin ventral kenarı (curvatura minör) sağa, dorsal kenarı (curvatura major) sola geçer. Böylelikle sol tarafı ön yüzünü, sağ tarafı ise arka yüzünü oluşturur. Midenin sol tarafını uyarıcı sol vagus artık ön duvarı, sağ tarafını uyarıcı sağ vagus ise arka duvarını uyarır. Midenin kraniyal ve kaudal uçları rotasyondan önce orta hatta iken, rotasyon devam ederken kraniyal (kardiak) bölgesi sola ve aşağıya, kaudal (pilorik) bölgesi sağa ve yukarıya kayar. Böylelikle mide son konumunu alarak, uzun eksenini sol üstten sağ alta doğru uzanır [28-30].

2.2.2 Mide anatomi ve fizyolojisi

Mide, yiyecekleri sindiren ekzokrin ve endokrin bir organdır. Mide 'J' şeklinde olup, özofagus ve duodenum arasında yerleşmektedir. Özofagus superiorunda, duodenum ise inferiorunda devamlılık göstermektedir. Ön yüz (ön duvar) ve arka yüze (arka duvar) sahip mide, anatomik olarak 5 bölüme (kardiya, fundus, korpus, antrum ve pilor) oluşmaktadır (Şekil 2.1). Histolojik olarak fundus ve korpus benzer özellikte olduğu için 4 bölüme ayrılır (kardiya, fundus, antrum, pilor). Özofagustan sonraki 1,5-4 cm'lik alan kardiya, sola doğru bombe yapan alan fundus, sonraki alan korpus (gövde), antrum ve son kısım pilor olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca mide dış yüzeyinde, kardiyadan pilora kadar olan bölümün (lateral) sol yan tarafı büyük kurvatur, sağ yan tarafı (medial) küçük kurvaturdur. Büyük kurvatur, omentum majusla, küçük kurvatur ise omentum minus ile devam eder. Midenin girişinde ve çıkışında sfinkter bulunur. Özofagus sfinkteri, mide asidinin özofagusa kaçmasını engellerken, pilor sfinkteri gerçek sfinkter olmayıp, kimusun (yarı sindirilmiş besinlerin olduğu mide içeriği) mideden ince barsağa yavaş geçmesini sağlar. Gastrik duvar 4 katmandan oluşur. İçeriden dışa doğru sıra ile mukoza, submukoza, muskularis propria ve serozadır. Mide iç yüzünde mukoza ve submukoza içe doğru katlanarak

kaba kıvrımlar oluşturur ve buna ruga denir. Mide yiyecekle dolu olduğunda rugalar yassılaşıp ve düzleşir [31-36].



Şekil 2.1 : Midenin bölümleri.

Kardiya

Özofagusun mideye açıldığı 1.5-4 cm uzunluğunda, dar, sirküler bir hattır. Lamina propriası, basit ya da dallanmış tübüler kardiyak bezler içerir. Salgı yapan hücrelerin çoğu mukus ve lizozim üretirler (şekil 2.2) [31-43].

Fundus

Fundus kubbe şeklinde olup, midenin sol superolateral kısmıdır. Lamina propriası dallanmış, tübüler olup, pariyetal ve şef hücrelerden oluşan, gastrik (oksintik) bezler vardır. Bu pariyetal hücreler HCl ve intrinsek faktör salgılar (şekil 2.2) [31-43].

Korpus

Fundus ve antrum arasındaki bölgedir. Histolojik olarak fundusa benzer özellikte olan gastrik (oksintrik) bezler vardır (şekil 2.2) [31-43].

Antrum

Midenin distal kısmındaki iki parçasından biridir. Küçük kurvatur üzerindeki incisura angularis, korpusla antrum arasındaki sınırdır (şekil 2.2) [31-43].

Pilor

Midenin en son bölümüdür. Pilor derin gastrik çukurcuklara sahip olup, bunların dibine açılan dallanmış, tubuler yapıda pilor bezler vardır. Bu bezler lizozim ve mukus salgılar (şekil 2.2) [31-43].

Midenin damarları

Midenin arterleri

Mide iyi kanlanan bir organ olup, sol ve sağ gastrik arter, sol ve sağ gastroepiploik arterler olmak üzere dört tane ana damarı mevcuttur [42-45].

- **Sol gastrik arter (a. gastrika sinistra) :** Trunkus çölyakusun en küçük dalı ve midenin en kalın arteridir. Küçük kurvatur tarafını besleyen bu arter insusura angularise yakındır.
- **Sağ gastrik arter (a. gastrika dekstra) :** Hepatica kominus arterin ilk yan dalıdır. Yine bu arter de küçük kurvatur tarafını besler. Ayrıca sol gastrik arterle birleşir. Common hepatic arter, trunkus çölyakusun orta kalınlıktaki dalıdır.
- **Sol gastroepiploik arter (a. gastromentalis sinistra) :** Splenik arterin en kalın dalı olan, sol gastroepiploik arter, sağ gastroepiploik arterle birleşerek birlikte midenin büyük kurvatur tarafını besler.
- **Sağ gastroepiploik arter (a. gastromentalis dekstra) :** Sol gastrik arterle birleşen bu arter, midenin büyük kurvatur tarafını besler.

Midenin venleri

Arterlerle paraleldirler, arterleri takip ederek aynı isimleri alırlar. Sol ve sağ gastrik venler portal vene drene olurken, sağ gastroepiploik ven, superior mezenterik vene; sol gastroepiploik ven ise splenik vene dökülür [42-45]

Midenin lenfatikleri

Midenin lenf damarları büyük ve küçük kurvatur boyunca arterlere eşlik ederler. Midenin kurvatura minör ve pilor bölgesini drene eden lenfatikler, gastrik venleri izleyerek trunkus çölyakus etrafındaki lenf düğümlerine gelir. Fundus ve korpusun üst kısımlarını drene eden lenfatikler, dalak hilusunda bulunan lenf düğümlerine boşalır. Korpusun aşağı kısımları ve pilor bölgesindeki lenfatikler ise sağ gastroepiploik ven etrafında yer alan lenf düğümlerine, oradan da pilorun arkasında bulunan retropilorik lenf düğümüne ve çölyak lenf düğümlerine dökülür [42-45].

Midenin sinirleri

Mide, otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik bileşenleriyle uyarılır. Sempatik lifler çölyak pleksustan gelirken, parasempatik lifler nervus vagustan gelir. Sempatik ve parasempatik lifler büyük ve küçük kurvaturdaki pleksusları meydana getirir. Muskularis proprianın sirküler ve longitudinal kas tabakası arasında bulunan sinir ağna Auerbach pleksusu denirken, submukozada bulunanlara ise Meissner pleksusu denir [42-45].

Midenin komşulukları

Diyafram ve karaciğerin sol lobu midenin üst ön yüzü ile yakın komşuluk göstermektedir. Midenin sol üst kısmında dalak bulunurken, pankreas, sol böbrek ve adrenal gland midenin alt - arka yüzü ile, transvers kolon ise midenin alt yüzü ile komşuluk içindedir [42-45].

Midenin ligamentleri

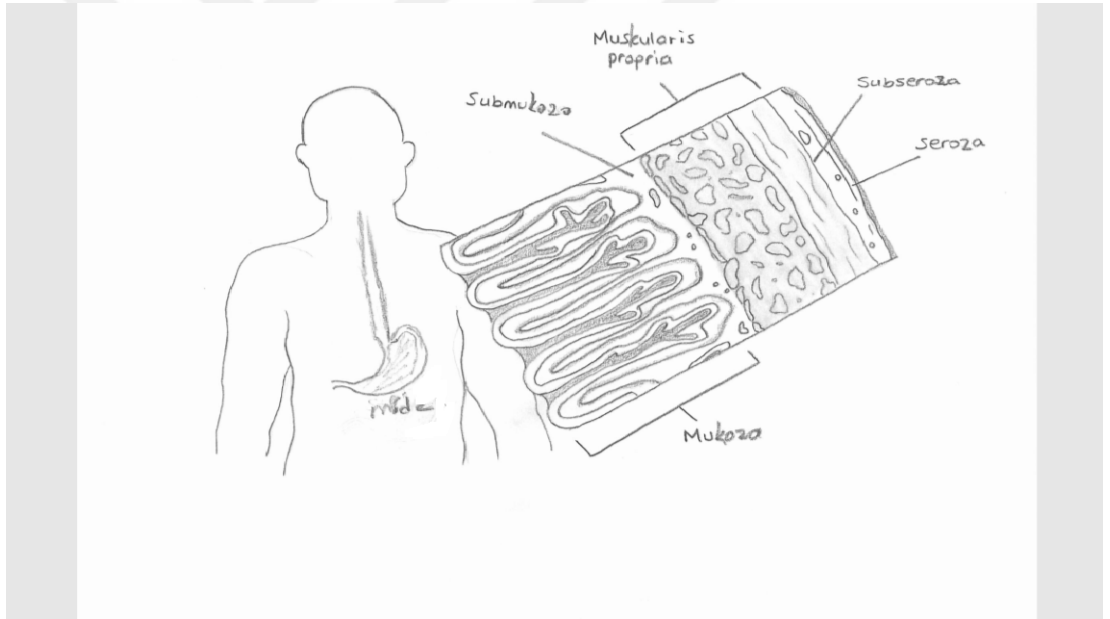
- **Hepatogastrik ligament** : Küçük omentumun proksimal kısmı olan bu alan, porta hepatisten küçük omentumuna ve abdominal özofagusun ventral mezenteri olarak yukarı uzanır. Ligament içinde sol gastrik arter ve ven, vagus sinirinin ön, arka mide ve hepatik bölümü ve lenf düğümleri bulunur [42-45].
- **Hepatoduodenal ligament**: Karaciğerde duodenumun ilk 2,5 santimetresine uzanan küçük omentumun distal kısmıdır. Serbest kenar hepatik pleksus ve

lenf düğümleri yanında hepatic arter, portal ven ve koledoktan oluşan hepatic triadı içerir [42-45].

- **Gastrokolik ligament** : Mide büyük kurvaturu ve duodenumun ilk kısmından transvers kolana geçen ligamenttir.
- **Gastrofrenik ligament** : Hepatogastrik ligamanın devamıdır, üst kısmı avaskülerdir, alt kısmı kısa gastrik arter ve venleri, lenf düğümlerini içerir.
- **Gastrosplenik ligament** : Mide büyük kurvaturdan dalağa uzanan ligamenttir.

2.2.3 Mide histolojisi

Mide duvarı 4 genel katmandan oluşmaktadır. Bu katmanlar sıra ile mukoza, submukoza, muskularis propria ve serozadır (Şekil 2.2) [35,37-39-41].



Şekil 2.2 : Mide mukozası.

Tunica mukoza

Mide mukozası üç tabakadan oluşur. Yüzeysel epitel, lamina propria ve muskularis mukozadır. Gastrik mukozada, değişik uzunluklarda, gevşek bağ dokusundan oluşmuş lamina propria içine uzanarak gastrik çukurcukları oluşturan, mide tarafından salgılanan kuvvetli asidin etkisinden koruyan, mukus sekrete eden kolumnar bir epitel ile döşeli yüzeysel epitel bulunur. Midenin her bölgesi için karakteristik bir yapı gösteren dallanmış tübüler bezler gastrik çukurcuklara açılır. Mukoza, altındaki

submukozadan bir düz kas tabakası olan muskularis mukoza ile ayrılır. Histolojik olarak mide mukozası kardiyak, fundik ve pilorik olmak üzere üç tipten oluşur. Kardiyak ve pilorik glandlar mukus sekrete eden hücrelerdir ve az sayıda endokrin hücre içermektedir. Pilorik glandlar sadece nötral müsün salgırlarken, kardiyak glandlar buna ek çok az miktarda sialomüsün de salgırlar. Fundus ve korpus mukozası istmik müköz hücreler, müköz boyun hücreler, pariyetal hücreler, esas hücreler, endokrin hücreler gibi bir kaç farklı hücre tiplerine sahiptirler.

Müköz hücreleri genelde kardial ve antral bölgede bulunur. Mukus ve pepsinojen II salgırlar.

Kök hücreleri oval biçimli, hücre bazaline yakın nükleusları bulunan prizmatik hücrelerdir ve yüksek mitotik aktiviteye sahiptir. Bazıları yüzeydeki müköz hücrelerin yerini almak üzere yüzeye hareket eder. Bazıları ise daha derin kısmına göç ederler ve müköz boyun hücreleri ile pariyetal, esas ve enteroendokrin hücrelere farklılaşırlar.

Müköz boyun hücreleri gastrik bezlerin boyun kısmındaki pariyetal hücreler arasında ya tek tek ya da kümeler halinde bulunur. Şekilleri düzensiz ve nükleusları ise hücre bazalinde bulunur. PAS ve müsikarmin ile pozitif boyanırlar. Müköz boyun hücreleri asidik müküs salgırlarken yüzey prizmatik hücreleri nötral müküs salgılamaktadır.

Pariyetal hücreler (oksintik), daha çok fundus ve korpustaki gastrik bezlerin üst yarısında bulunur. Yuvarlak ya da piramidal hücrelerdir. Santral yerleşimli, yuvarlak tek nükleusları vardır. Hematoksilen-Eosin boyasında, sitoplazmaları oldukça eozinofiliktir. En belirgin özellikleri çok sayıda mitokondri içermeleri ve apikal plazma membranının yaptığı derin sirküler invajinasyonlar olan intraselüler kanaliküllerdir. Histamin ve polipeptid yapısındaki gastrin, gastrik mukozadan salgılanır ve hidroklorik asit yapımını uyandır.

Esas (zimojen) hücreler, tübüler bezlerin alt bölümünde daha fazladır. Protein sentezi yapan ve salgılayan tüm hücrelerin özelliklerine sahip olan bu hücrelerin sitoplazmaları granüllü endoplazmik retikulumdan zengin olduğu için bazofiliktir. Golgi apparatus çekirdeğin üst kısmında yerleşmiş olup, apikal sitoplazma asidofilik zimogen granülleri ile doludur. Sitoplazmalarındaki granüllerde inaktif bulunan pepsinojen enzimi, midenin asit ortamına salgılandığında proteolitik enzim olan pepsine dönüşür. İnsanlarda bu enzim ek olarak lipaz da üretir.

Enteroendokrin hücreler, gastrik bezlerin tabanında yerleşmiş olup, fundus, korpus ve antral glandlarda bulunur. Bu hücreler endokrin bez gibi görev yaparak, ürünlerini çevre dokuya dolaşım içinde verebilir [35,37-39-41].

Tunica submukoza

Muskularis mukoza ve muskularis propria arasında bulunan bu yapı, gevşek bağ dokusu, kan ve lenf damarlarından oluşmuştur. Lenfoid hücreler, makrofajlar ve mast hücreleri içerir.

Tunica muskularis propria

Üç yönde düzenlenmiş düz kas liflerinden oluşmuştur. Dış tabakası longitudinal, orta tabakası sirküler, iç tabakası ise obliktir. Pilororda orta tabaka oldukça kalınlaşmış ve pilor sfinkterini oluşturmaktadır.

Tunica seroza

Mide duvarının en dışında bulunan ve mezotelyum ile örtülü olan seroza, ince bir tabakadır.

2.2.4 Epidemiyoloji ve Etyoloji

Dünya sağlık örgütü'nün 12 eylül 2018 tarihinde yayınladığı verilere göre, tüm dünya genelinde 18.1 milyon yeni vaka bildirilirken, 9.6 milyon kişi kanser yüzünden hayatını kaybetmiştir. Mide kanseri görülme sıklığı tüm kanserler içerisinde 1 milyon kişi ile beşinci sırada olup, kanserlerin %5.7'sini oluşturmaktadır. Yine aynı verilerde kanser ile ilişkili ölümlerde 783.000 (%8.2) kişi ile ikinci sırada yer almaktadır [1]. Mide kanserinin, erkeklerde kadınlara oranla görülme sıklığı daha fazlayken yaşla beraber bu rakamlarda artmaktadır. Yapılan çalışmalarda mide kanserini artıran sebepler arasında karbonhidratlı besinler, turşular, tütsülenmiş ve tuzlanmış et ve balıkların olduğu gözlenmiştir. Yine nitrit ve nitrat içeren gıdalar ve sigara tüketimi, A kan grubu olanların ve asbest, poliaromatik hidrokarbon ve nitroz komponentleri gibi karsinojenlere maruz kalan mesleklerde çalışan kişilerin kanser riskinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir [46-48].

2.2.5 Midenin tümör dışı hastalıkları

Midenin yapısal bozuklukları

Pankreatik heterotopi (PH) : Heterotopi bir dokunun olması gerekenden başka yerde yerleşmesidir. Gastrointestinal sistemde pankreatik heterotopilerin %25-30'u mide yerleşimlidir. Kitle etkisiyle mide çıkış tıkanıklığına sebep olabilir [31,47,49-50].

Hiatal Herni : Bir organın yapısal bir defekt ya da sonradan zayıflamış bir bölgeden geçerek başka bir bölgeye doğru fıtıklaşmasıdır [31,47,49-50].

- **Konjenital hiatal herni :** Konjenital periözofageal boşluk veya konjenital elonge özofageal hiatusa bağlı olarak gelişebilir. Abdominal içerik toraksa uzanım gösterir.
- **Edinsel hiatal herni :** Doğal ya da cerrahi olarak gelişmiş diaframatik defekt nedeniyle, mide trokal boşluğa doğru uzanır.

Divertikül : Gastrointestinal sistemde mukozanın duvara doğru kese şeklinde fıtıklaşmasıdır [31,47,49-50].

- **Konjenital divertikül :** Bu olgu nadir görülmektedir. Genelde mide arka duvar ve kardiya yerleşimli olup, soliter yapıda iyi sınırlı, yuvarlak veya oval kesecik şeklindedir.
- **Edinsel divertikül :** Genellikle antrum yerleşimlidir. İnflamasyon sonucunda gerçekleşir.

2.2.6 Non neoplastik değişiklikler

Yüzey epitel dejenerasyonu

Her türlü hasara karşı verilen, özgün olmayan yanıttır. Mukoza yüzeyinde kıvrıntılı ve tomurcuklanan bir görünüm oluşur [31,47,49-51].

Erozyon

Müskularis mukozayı aşmayan doku kayıplarıdır. Düz veya kabarıktırlar. Düz olanlar; ilaç, alkol, safra ve iskemiye bağlı akut hasarlarda gözlenirken, eleve erozyonlar ise *H.pylori*'ye özgüdür [31,47,49-51].

Foveolar (pit) hiperplazi

Artmış hücre proliferasyonuna bağlı olarak gelişen, foveola boyunun uzaması ve tirbüşon görünümü almasıdır [31,47,49-51].

Atrofi

Gastrik bezlerin kaybıdır. Yerlerini fibroblastlar ve ekstraselüler matriks alır. Fonksiyon kaybı ile sonuçlanır [31,47,49-51].

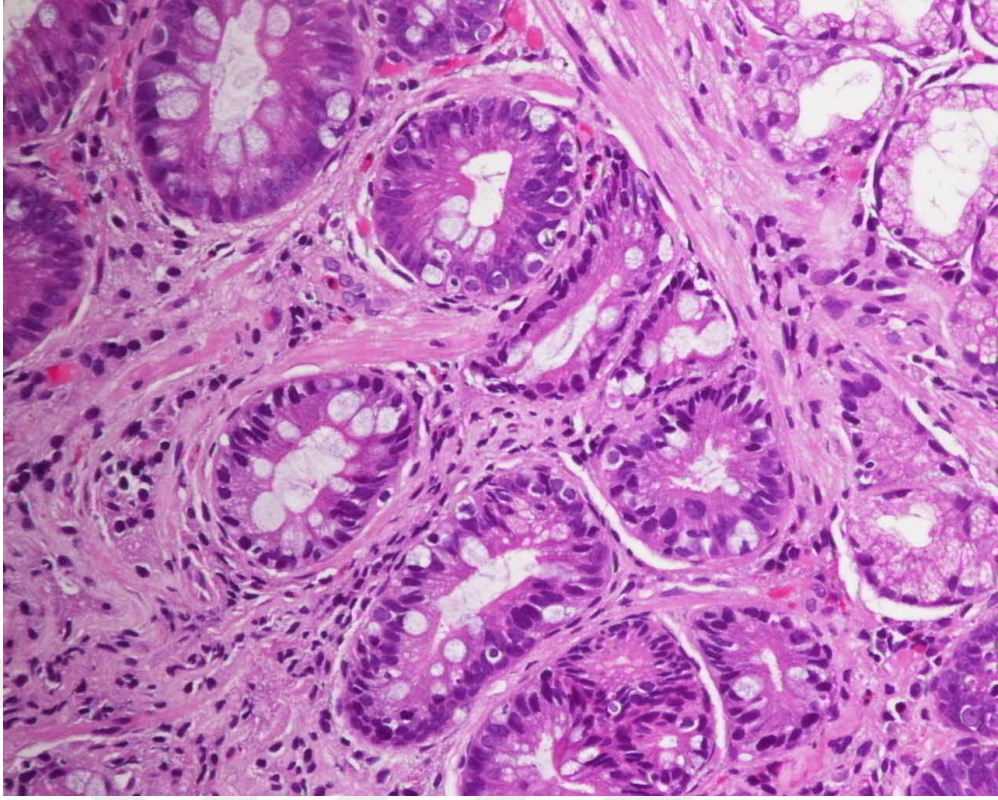
Metaplazi

Geri dönüşü olabilen ve olgunlaşmış bir dokunun yerini olgunlaşmış başka bir dokunun alması ile karakterli adaptif bir durumdur. Epitelial ve mezenkimal dokuda gelişebilir .

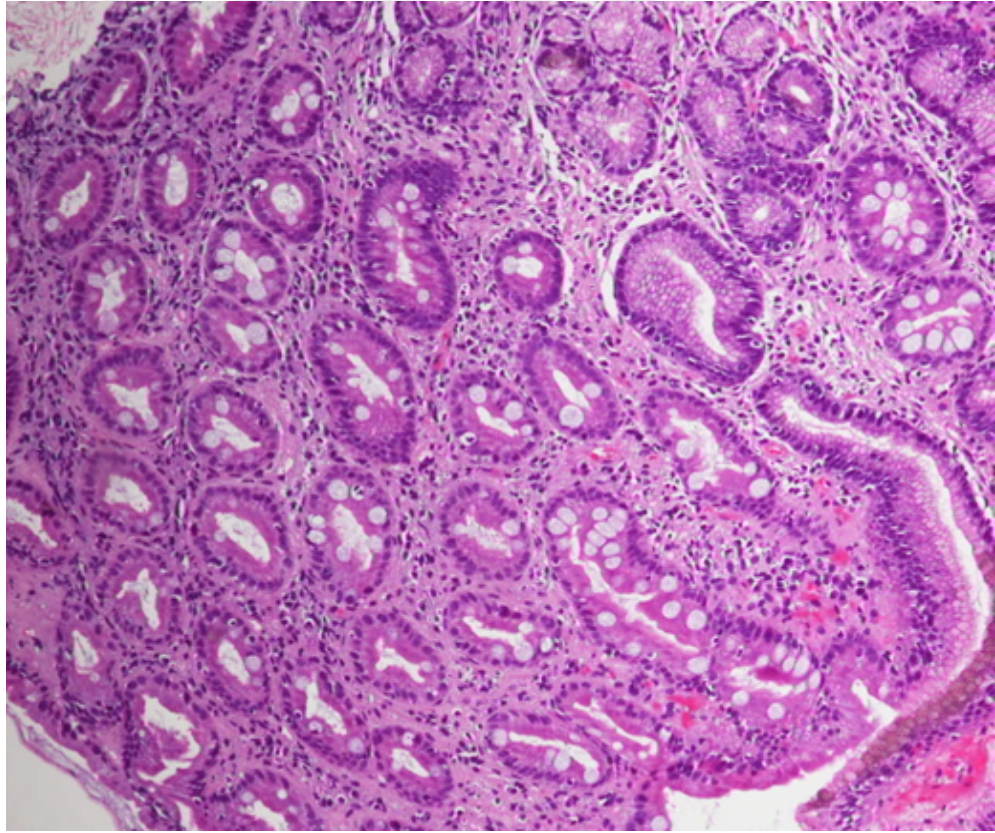
Midede dört tip metaplaziye rastlanmaktadır. Pilorik metaplazi ve intestinal metaplazi(İM) en yaygın görülenleridir (Şekil 2.3, Şekil 2.4, Şekil 2.5, Şekil 2.6). Buna karşın silialı hücre metaplazisi ve pankreatik asiner hücre metaplazileri ile daha nadir karşılaşmaktadır [31,47,49-51].

İntestinal metaplazi

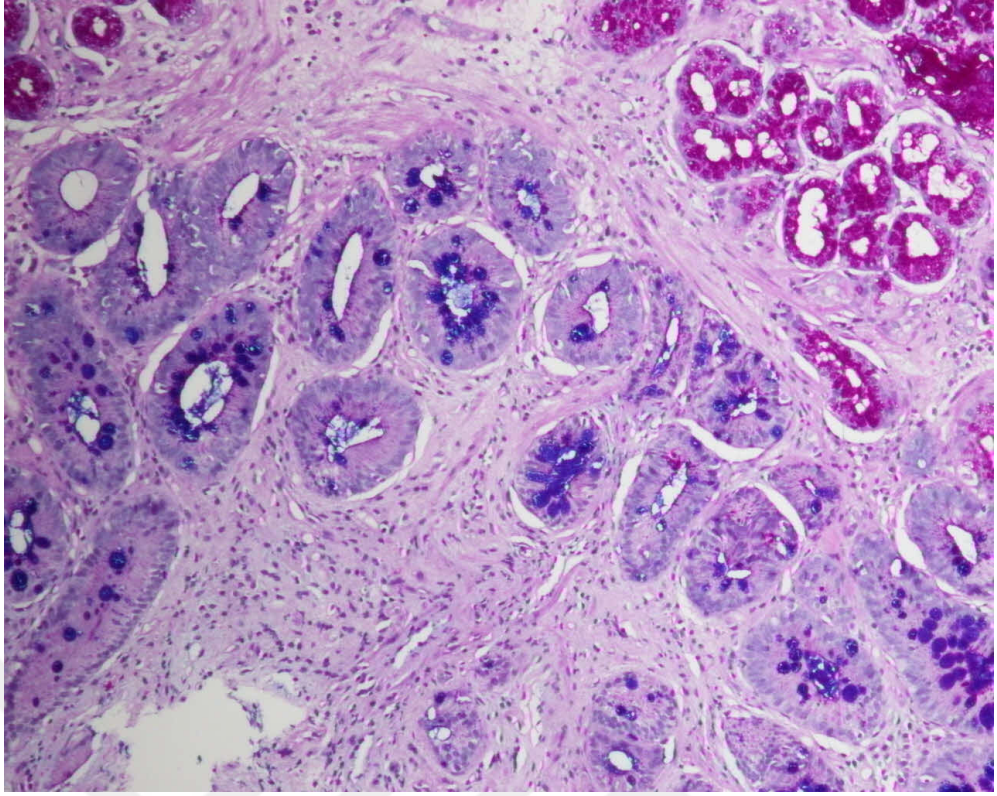
Midede en sık görülen metaplazidir. İM mide bez ve foveolarını döşeyen epitel hücrelerin hem morfolojik hem de histokimyasal olarak değişmesiyle karakterize kompleks bir olaydır. Bu değişmeler sonucu ince barsak kriptlerini döşeyen epitel (goblet ve absorptif) hücrelerine benzer fenotipik özellik kazanırlar (Şekil 2.4, Şekil 2.5, Şekil2.6) [31,47,49-51].



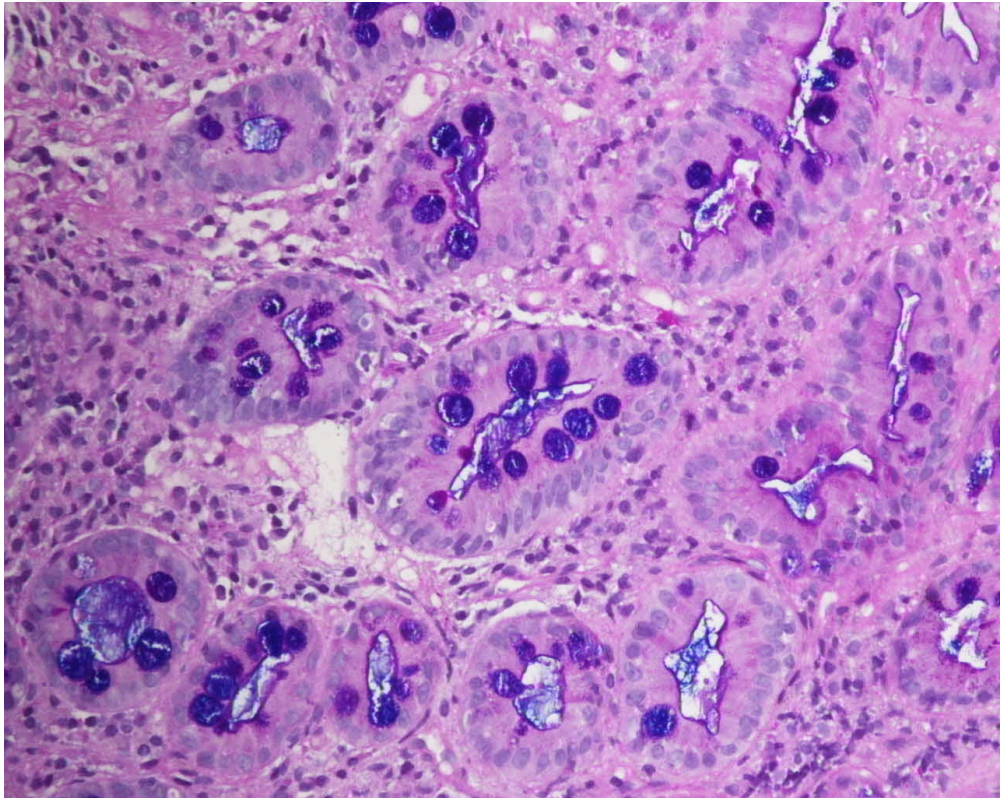
Şekil 2.3 : Metapilazi x200 H&E.



Şekil 2.4 : İntestinal metaplazi x100 H&E.



Şekil 2.5 : İntestinal metaplazi x100 PAS-AB.



Şekil 2.6 : İntestinal metaplazi x200 PAS-AB.

Pilorik metaplazi

Fundik glandların asid ve enzim salgılayan hücrelerinin yerini mukus salgılayan pilorik tip glandların almasıdır. Yaşla ilgili bir süreçtir ve proksimalden distale doğru ilerler [31,47,49-51].

Siliyalı hücre metaplazisi

Ülser, displazi ve adenokarsinomlu mide mukozasında İM'nin derin bölgelerinde gelişir [31,47,49-51].

Pankreatik asiner metaplazisi

Otoimmün gastritle ilgili olup daha çok kardiada gözlenir [31,47,49-51].

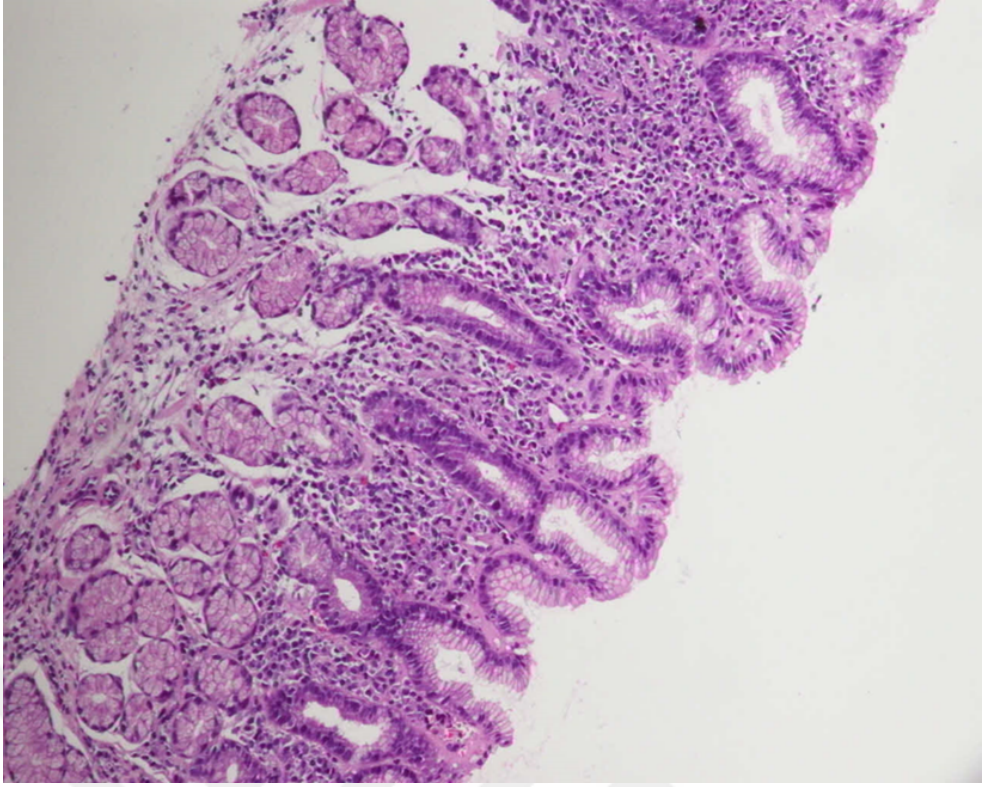
2.2.7 Midenin enfeksiyöz hastalıkları

Gastropati

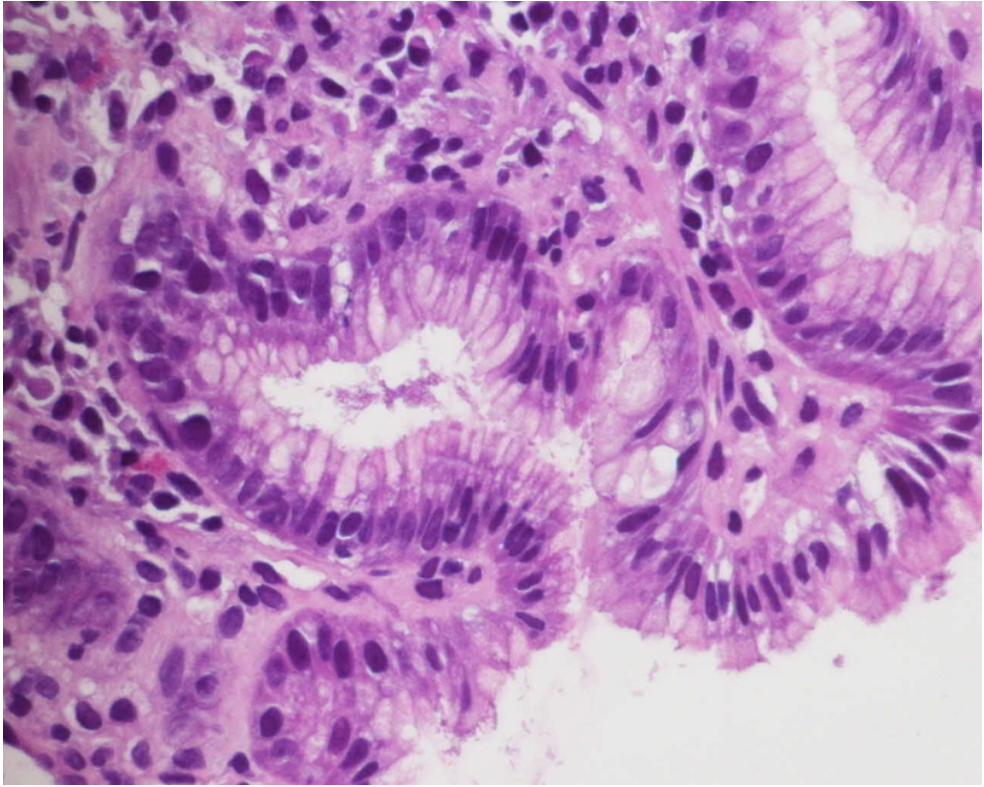
Farklı etkenlere karşı, inflamasyon oluşmaksızın gelişen mukozal yanıtı tanımlar [31,47,49-51].

Gastrit

Mide mukozasının inflamasyonudur (Şekil 2.7, Şekil 2.8) [31,47,49-51].



Şekil 2.7 : Gastrit x100 H&E.



Şekil 2.8 : Gastrit x400 H&E.

2.2.8 Midenin tümör öncü lezyonları

Midenin intraepitelyal lezyonların yaklaşımları batılı ülkeler ve Japonya arasında farklılıklar göstermektedir. Terminoloji sübjektif olmakla beraber, intraepitelyal neoplazi, adenom ve displazi şeklinde sınıflandırılmıştır [31,47,49-51].

İntraepitelyal neoplazi

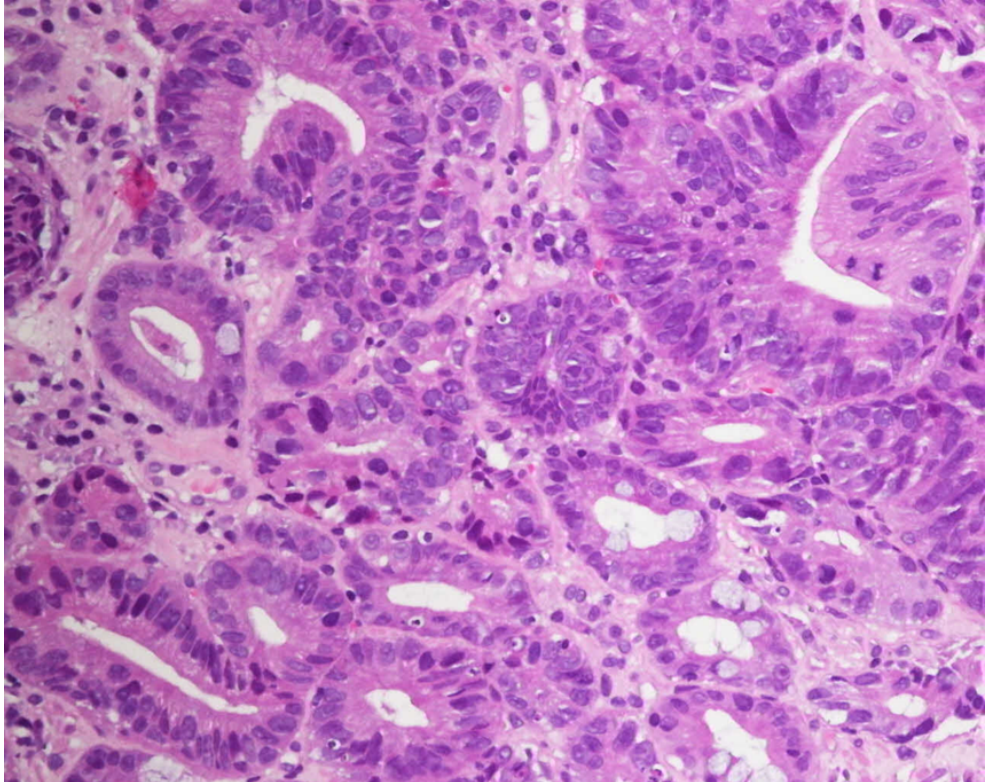
Dil birliğinin sağlanması için tüm displastik lezyonlar (adenom ve displazi) için, intraepitelyal neoplazi teriminin kullanılması önerilmektedir.

Adenom

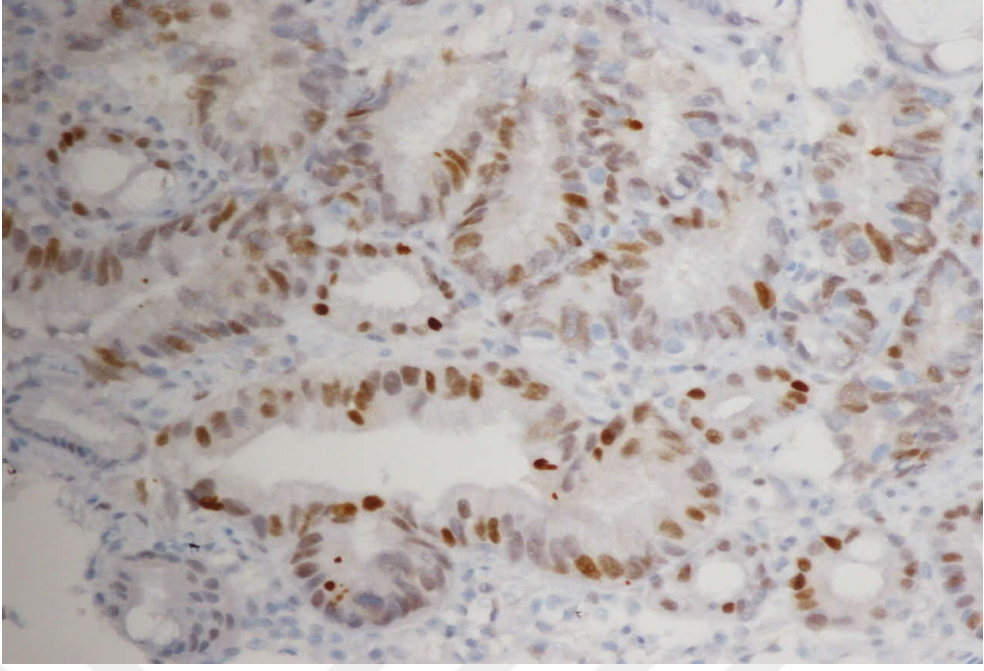
Tübüler ve tübülovillöz yapıda displastik bezlerden oluşan, çevre mukozadan belirgin sınırla ayrılan, nodüler ve polipoid yapıda lezyonlardır.

Displazi

Endoskopik olarak lezyonun tanımlanmadığı, biyopsi örneklerinde izlenen sitolojik ve yapısal değişikliklerdir (Şekil 2.9, Şekil 2.10).



Şekil 2.9 : Displazi x200 H&E.



Şekil 2.10 : Displazi x200 p53

2.2.9 Midenin tümörleri

Mide tümörleri epitelyal ve nonepitelyal tümörler olmak üzere iki ana guba ayrılmıştır (Tablo2.1) [31,47,-51].

Tablo 2.1 : WHO 2010, mide tümörleri sınıflandırması [47].

Epitelyal Tümörler	Epitelyal Tümörler	Mezenkimal Tümörler	Lenfomalar / Sekonder tümörler
<u>Premalign Lezyonlar</u>	Skvamöz hücreli karsinom	Glomus tümörü	
Adenom	Andiferansiye karsinom	Granüler hücreli tümör	
İntraepitelial neoplazi (Displazi), düşük grade	Nöroendokrin Neoplazi	Leiomyom	
İntraepitelial neoplazi (Displazi), yüksek grade	Nöroendokrin Tümör (NET)	Pleksiform fibromiksom	
<u>Malign Lezyonlar</u>	NET	Schwannom	
Adenokarsinomlar	G1(karsinoid)		
Papiller adenokarsinom	NET G2	İnflamatuvar myofibroblastik tümör	
Tübüler adenokarsinom	Nöroendokrin Karsinom (NEK)	Gastrointestinal stromal tümör	
Müsinöz adenokarsinom	Büyük Hücreli NEK	Kaposi sarkomu	
Zayıf koheziv adenokarsinom (Taşlı yüzük hücreli karsinom ve diğer varyantlar)	Küçük Hücreli NEK	Leiomyosarkom	
Mikst tip adenokarsinom	Mikst adenonöroendokrin karsinom	Synovial sarkom	
Adenoskuamöz karsinom	Enterokromafin hücre, serotonin-üreten NET	Lenfomalar	
Lenfoid stromalı karsinom (Medüller Karsinom)	Gastrin üreten NET (Gastrinoma)	Sekonder Tümörler	
Hepatoid adenokarsinom			

Lauren sınıflaması

Diffüz tip

Daha agresif tümörlerdir ve daha sık metastaz yaparlar. Genç yaşta görülme oranı yüksektir. Taşlı yüzük morfolojisine sahiptir. Gland formasyonu seyrek olup, genelde hücreler tek tek yayılım gösterir. Tümör hücreleri genellikle asidik veya nötral müsin içerirler [31,47-49].

İntestinal tip

İntestinal metaplazi ve Hp ile ilişkilidir. Histolojik olarak tübüler, papiller ve solid alanlar içeren patern ile karakterizedir. Yapılan çalışmalarda erkeklerde kadınlara oranla daha fazla görülmektedir [31,47-49].

Mikst tip

İntestinal ve diffüz tip mide karsinom sınıfına konulamayan, her iki tipinde özelliklerini bulunduran karsinomlardır [31,47-49].

WHO sınıflaması

Tümör tipleri

- **Tübüler adenokarsinom:** Dilate yarıklanma gösteren ve değişen çaplarda dallanan tübüller içerir [31,47,49].
- **Papiller adenokarsinom:** İyi diferansiye dışa doğru, parmaklı çıkıntılar şeklinde büyüme gösteren karsinomlardır [31,47,49].
- **Müsinöz adenokarsinom:** Tümörün %50'sinden fazlasında müsin gölcükleri bulunması ile karakterizedir [31,47,49].
- **Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom:** Hücre membranını karşıya iten bir nükleusu ve geniş, berrak bir sitoplazmaya sahiptir. Az müsin veya hiç müsin içermeyen hücreler veya anaplastik hücreler vardır. Küçük granüller içeren koyu eozinofilik hücrelere sahiptir [31,47,49].

Tümör lokalizasyonları

Midedeki yerine göre gastrik karsinomlar ikiye ayrılır. Kardiya ve gaströzofageal bileşke yerleşimli tümörler proksimal; korpus ve antrum yerleşimli tümörler distal tümörler olarak adlandırılır. Gastrik karsinomlar genellikle preplorik bölge, antrum ve küçük kurvaturda görülmektedir. Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalar, kardiada görülme sıklığının arttığını öne sürmektedir [31,47,49].

2.2.10 Tümörün makroskopik sınıflandırılması

Erken evre mide tümörleri makroskopik olarak üç ana grupta incelenirken, Borrmann sınıflandırmasına göre dört ana grupta incelenir. Erken evre makroskopik sınıflama Tip I- protrüde tip, Tip II Superfisyal tip ve Tip III Ekskavaze tiptir.

İleri evre mide kanserlerinde ise, tümör sapsız polip görünümünde olan Polipoid karsinom (tip1), yüzeyinde geniş ülser alanı içeren Fungatif karsinom (tip2), düzensiz ve değişik ölçülerde olabilen, ülserin tabanı mukoza seviyesinden daha derinde olan Ülseratif karsinom (tip3) ve mide duvarını diffüz olarak kalınlaştırıp pilora kadar ilerlemiş olan Diffüz infiltratif karsinom (tip4)'dur [31,47,49].

2.2.11 Mide kanserlerinde evreleme

Kliniklerin ve uzmanların ihtiyaçları doğrultusunda evreleme sistemi yapılmıştır. En çok kullanılan evreleme sisemi “The International Union for Cancer Control” (UICC) ve “American Joint Committee on Cancer” (AJCC) tarafından birlikte geliştirilen tümör-nod-metastaz (TNM) sistemidir (Tablo2.2 ve 2.3) [31,47,49].

T: Tümörün mide duvarına penetrasyon derecesi

N: Lenf nodlarında tümör tutulumu

M: Uzak metastaz ile değerlendirilmektedir.

Tablo 2.2 : TNM evreleme [47].

Parametre	Primer tümör(T)	Bölgesel lenf bezi(N)	Uzak metastaz(M)
X	Primer T değerlendirilemedi	Bölgesel lenf nodu tutulumu değerlendirilemedi	Uzak metastaz bilinmiyor
0	Primer T mevcut değil	Bölgesel lenf nodu tutulumu mevcut değil	Uzak metastaz yok
Is	Karsinom in situ	-	-
1	T lamina propria, muskularis mukoza ya da submukozaya invazedir	Metastazlı bölgesel lenf nodu sayısı1-2' dir	Uzak metastaz mevcuttur
2	T muscularis propria'ya invazedir	Metastazlı bölgesel lenf nodu sayısı 3-6 arasındadır	-
3	T visceral periton veya komşu yapılara invaze olmadan subserozal bağ dokuya penetre olmuştur	Metastazlı bölgesel lenf nodu sayısı 7ve 7' den fazladır(7-15 arası N3a, 16 ve 16'dan fazla ise N3b olur)	-
4a	T serozayı(visceral periton) invaze etmiştir	-	-
4b	T çevre yapılara invazedir	-	-

Tablo 2.3 : UICC'ye göre TNM sınıflaması [47].

Evre	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T2	N0	M0
IIA	T1	N1	M0
	T3	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
IIIA	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
	T4a	N1	M0
IIIB	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
	T4b	N0	M0
	T4b	N1	M0
IIIC	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
	T4b	N2	M0
	T4b	N3	M0
IV	T4a	N3	M0
IV	T herhangi		M1

2.2.12 Mide kanserinde tanı ve tedavi

Tanı yöntemleri

Laboratuvar bulguları: Dışkıda gizli kan, sebebi bilinemeyen anemiye rastlanabilir. Yine karsinoembriyjenik antijen (CEA) ve CA 19-9 yüksek olması halinde hastada adenokarsinom olma ihtimali düşünülebilir. Fakat kesin tanı yöntemi değildir [51].

Radyolojik tanı yöntemleri: Direkt grafiler, mukozal paterni değerlendirme imkanı veren çift kontrastlı grafiler, bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans görüntüleme, endoskopik ultrasonografi gibi yöntemleri içermektedir [51-52].

Endoskopik biyopsi örneğinden tanı: Mide kanserinin kesin tanı konmasında en önemli yöntemdir. Bu yöntemde gastroskopik inceleme esnasında midenin bütün bölümleri dikkatle incelenerek şüpheli alanlardan biyopsi alınır. Alınan biyopsi örneği patolojiye gönderilir ve patolog tarafından incelenir [51-53].

Tedavi

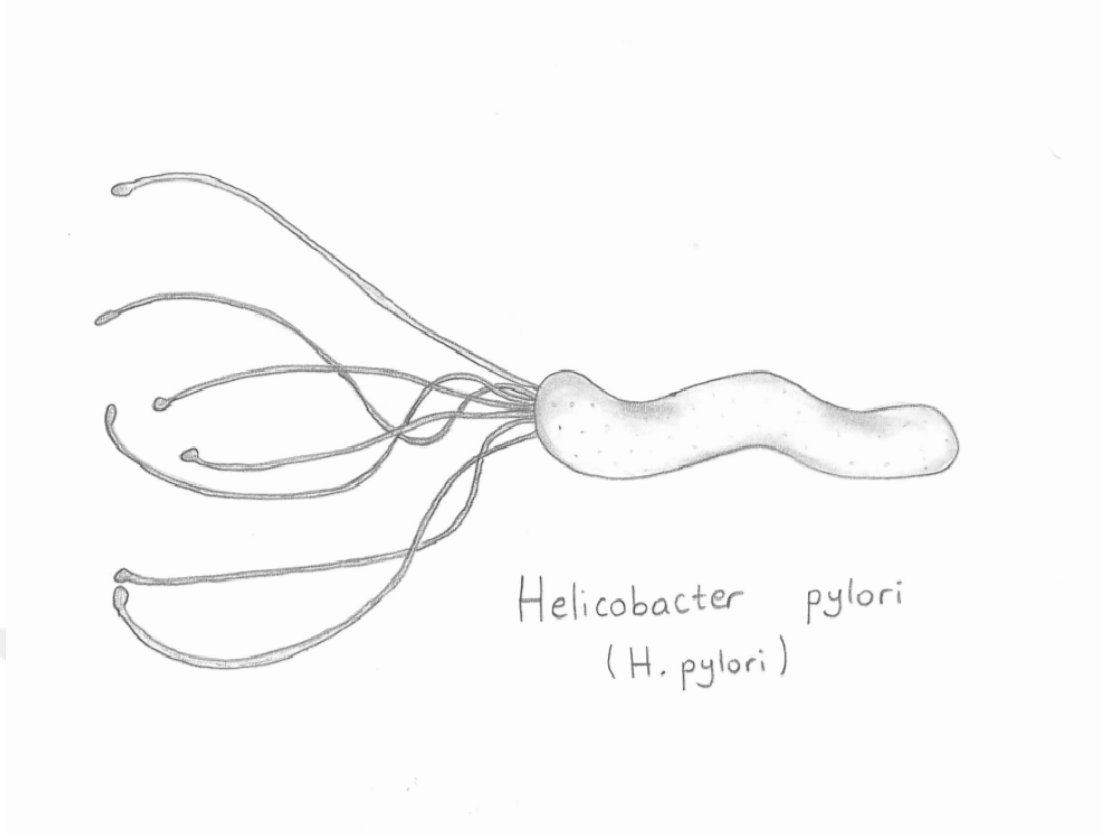
Cerrahi tedavi: Yapılan çalışmalarda endoskopik cerrahi işlemleri 2cm'den küçük, ülserasyonu ve lenfovasküler invazyonu olmayan submukozal kanserlerde yapılmaktadır. Uzak metastazı olmayan, cerrahi riski kabul edilebilir vakalarda ise total veya subtotal gastrektomi rezeksiyonu yapılır. Tümörün midedeki yerine ve paternine göre subtotal rezeksiyon yapılır. Bu vakalarda tümör antrumda olup proksimal mide korunur. Yapılan alışmalar sonucu total gastrektomi yapılması tercih edilmektedir [50,54,55].

Kemoterapi: Gastrik karsinomlu vakalarda cerrahi sonrası adjuvan kemoterapinin yalnız cerrahi yapılara göre sağkalım üstünlüğü yapılan randomize çalışmalarla ortaya konmuştur [54].

2.3 *Helicobacter pylori*

2.3.1 Genel bilgiler

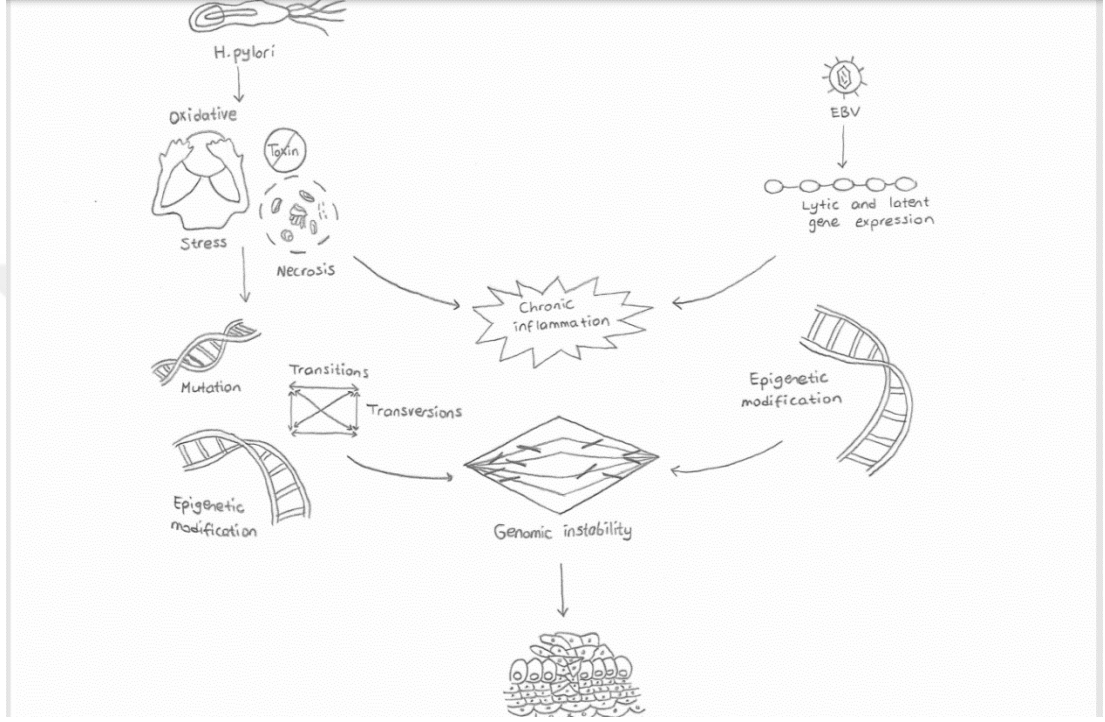
H.pylori ilk kez 1983 yılında kültüre edilip, tanımlanmıştır. Mide ve duodenumun çeşitli alanlarına yerleşebilen, gram negatif (-), spiral yapıda, 3-7 adet flagellalı, mikroaerofilik bir bakteri olan *H.pylori* dünya nüfusunun neredeyse yarısını enfekte etmiştir. Gelişmemiş ülkelerde bu oran gelişmiş ülkelere göre daha fazladır (şekil 2.12) [56-58].



Şekil 2.11 : *Helicobacter pylori*.

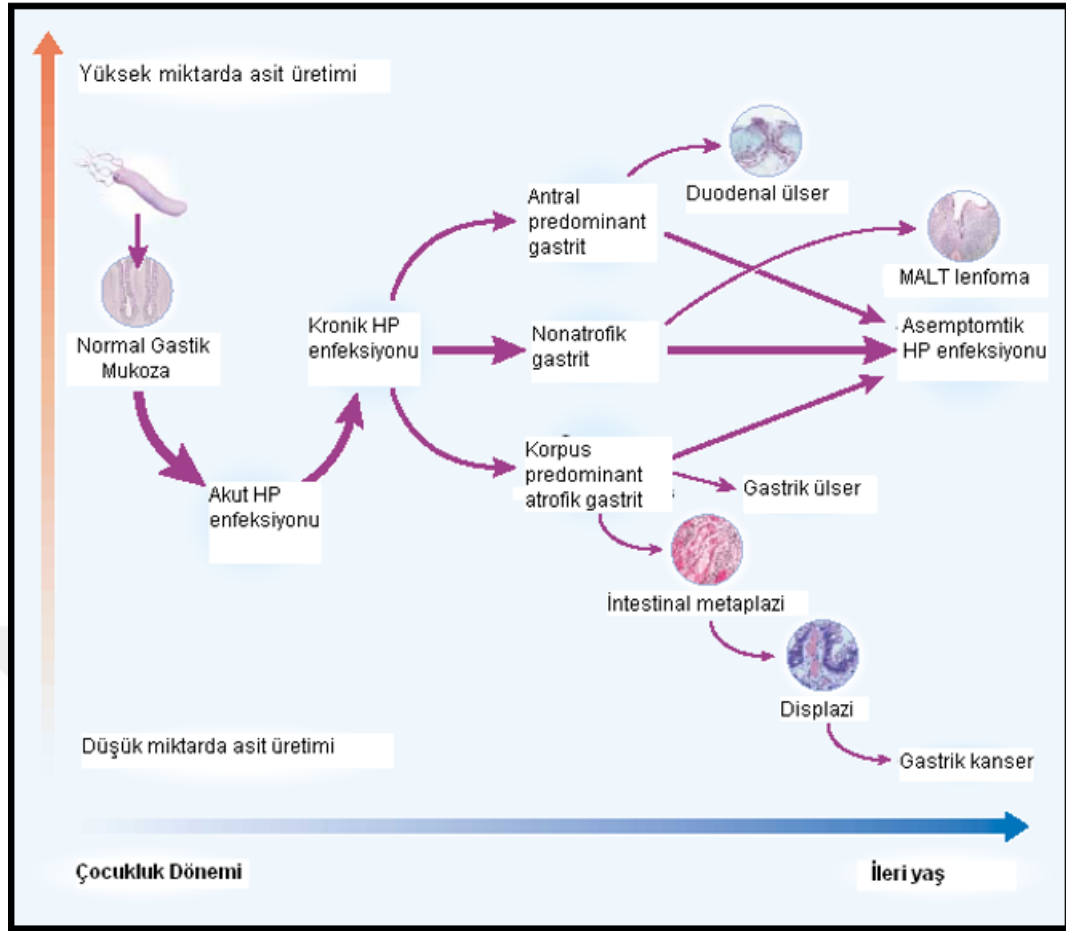
H.pylori enfeksiyonu insandan insana oral-oral, fekal-oral yolla bulaştığı düşünülmektedir. Mide de *H.pylori* genellikle antrumda görülür. Yine yapılan araştırmalarda duodenumda görüldüğü ve enfeksiyonun heterojen olduğu gösterilmiştir [59]. *H.pylori* kronik gastrit, duodenit, peptik ülser, mukoza ile ilişkili lenfoid doku (MALT), gastrik karsinom gibi hastalıklara neden olur. *H.pylori*, insan midesini kolonize eden sınıf I tip kanserojendir. Hp'nin patogenezi kısmen kolonizasyon ve virulans faktörlerine bağlıdır ayrıca flagella gastrointestinal mukozanın kolonileşmesinde önemli rol oynar [60-61]. *H.pylori*'nin virülans faktörleri arasında 4 tanesi daha büyük öneme sahiptir. Bunlar; sitotoksin ile ilişkili gen A ürünü (CagA), cagPAI (cag patogenez adacığı), ökaryotik hücrelerde vakuol oluşturarak apoptoza yol açan sitotoksini (VacA) ve diğer membran proteinleridir (OMP). *H.pylori*'nin gastrointestinal mukozanın yüzeyindeki canlılığı bazı kolonizasyon faktörlerine bağlıdır. Bunlar; hareketliliği, kematoksisi, dış membran proteinleri, üreazı ve bakterinin özel sarmal morfolojisidir. *H.pylori* kolonize olduğunda kronik gastrit, duodenit, ülserasyon, malign neoplastik gibi hastalıkları tetikler. Midenin asit ortamı Hp'nin çoğalması için uygun değildir. *H.pylori* optimum ortamında pH'sı nötrken, sıvı ortamda pH'sı 8.5 tir. Bunun için üreaz enziminin

H.pylori'yi bu asitten koruyucu özelliği olduğu düşünülmektedir. Mide epitel hücrelerinde bikarbonat ve üre salgılanmaktadır. Üreaz enzimi, üreyi midenin mukus tabakası içinde amonyak ve karbondioksite paralayarak, *H.pylori*'nin yaşayabileceği alkali ortamı oluşturur. Yine üreaz buna ek olarak iltihabi reaksiyonlara da katılarak, dış membran proteinleri (OMP) yolu ile gastrik epitel hücreleri üzerindeki CD74 reseptörleriyle etkileşim haline girer ve *H.pylori*'nin yapışmasını kolaylaştırır [67-73].



Şekil 2.12 : *H.pylori* ve EBV'nin hastalık oluşum şeması.

H.pylori hızlı hareketi ve üreaz enzimi sayesinde midenin mukus tabakasına ulaşır. OMP'ler ile yapıştıktan sonra *H.pylori* burada kolonize olarak virulans faktörleri sayesinde önce akut inflamasyona neden olur. Gastrik mukozanın iltihaplanması metaplaziye yol açabilir. Sonrasında da bazı *H.pylori* enfekte hastalarda mide kanseri gelişir (Şekil 2.12, Şekil 2.13) [74-76].



Şekil 2.13 : *H.pylori*'nin hastalık oluşturma döngüsü [77].

H.pylori, üreaz aracılı myozin II aktivasyonu yolu ile üreaz, proteaz, fosfolipaz, amonyum ve asetaldehit salgılayarak gastrik mukozal bariyeri bozar. *H.pylori*, reaktif oksijen yapımını ve nitrojen suşlarını indükler. Konağın antioksidan savunma mekanizmalarını süprese eder ve oksidatif Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) hasarına neden olur. Endojen DNA hasarını artırarak, DNA'da nükleer ve mitokondrial mutasyon ve onarım aktivitesinde azalma yaparak, aberan DNA metilasyonu geliştirerek, gastrik karsinogenezin gelişmesine yardımcı olur [78-85]

2.3.2 Helicobacter pylori saptama yöntemleri

Klinik tanısı için hastanın klinik bulguları ile beraber klinik materyalde *H.pylori* bakterisinin saptanması gerekmektedir. Bunun için bazı invaziv ve noninvaziv yöntemlerden yararlanılır.

Noninvaziv yöntemler

Serolojik testler

H.pylori enfeksiyonu sonrası organizmada humoral immün yanıt oluşur. Serumda bakteriye özgü olan IgG ve IgA seviyeleri yükselir. Hastaya ait serumdan bu sayede IgG antikörleri tespiti yapılır. Bu testler mikroorganizma ile etkileşimi tespit eder, fakat devam eden bir enfeksiyonu göstermez. Yine vacA ve cagA patolojik önemi bulunan proteinlere karşı antikor yanıtını ölçen ELISA, rekombinant IB, RIBA, Western blotting gibi serolojik yöntemler geliştirilmiştir [86].

Üre-nefes testi (ÜNT)

Genellikle tedavinin takibi için kullanılır. Yüksek duyarlılık ve özgüllük oranlarına sahiptir. Bu test için iki tip karbon izotopu kullanılmaktadır. Radyoaktif karbon 14C izotopu ve non-radyoaktif 13C izotopu kullanılabilir. Hasta bu izotoplarla işaretli üreyi yuttuktan yaklaşık 30 dk sonra nefes örnekleri toplanır ve *H.pylori* saptanır. Yapılan çalışmalarda üre-nefes testinde ve serolojik testlerde antikor kullanımı kesilip testler yapılmaktadır. Bunun sebebi antikor kullanımının yalancı negatiflik verebilmesidir [86].

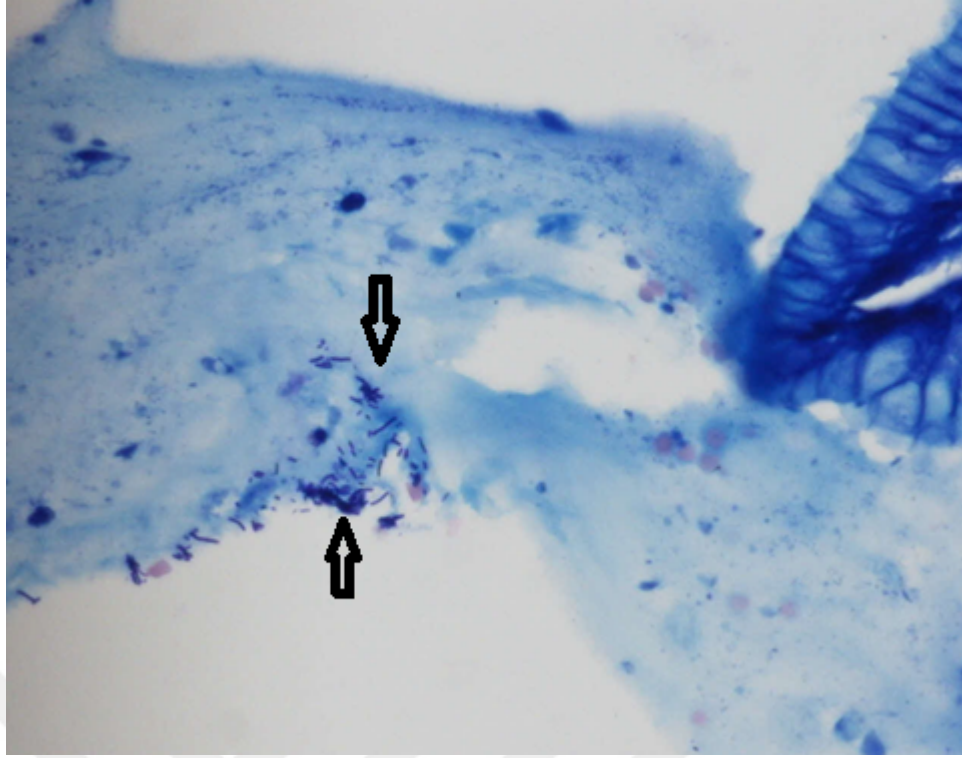
Dışkıda antijen arayan testler

İki temel sistem kullanılmaktadır. Bunlar; poliklonal antikörlerin kullanıldığı; Premier Platium HpSA ve monoklonal antikörlerinin karışımının kullanıldığı FemtoLab *H.pylori*'dir. Bu yöntemlerde taze dışkı örneklerindeki *H.pylori* antijenlerinin antikor emdirilmiş kuyucuklarda taranmasına dayanmaktadır [87-89].

İnvaziv yöntemler

Histolojik testler

Hastadan endoskopi işlemi ile midesinden alınan doku örneklerinin incelenmesi işlemine dayanmaktadır. Genelde midenin antrum, pilor ve gövdesinden 2'şer adet doku örneği alınarak yapılır. Alınan dokular formalinde fikse olur, fiksasyon işleminden sonra dokular hematoksilen-eosin boyanır. Daha sonrasında ise, histokimyasal boyamalar yapılır. Bu histokimyasal boyalardan bazıları; Giemsa, gümüş boyama, Gram boyama, Alcian Blue'dur (Şekil 2.14) [86,88,90].



Şekil 2.14 : *H.pylori* Giemsa boyası x400.

Kültürde izolasyon

H.pylori ortam şartlarına çok duyarlı bir bakteridir. Oda sıcaklığında çok çabuk canlılığını yitirir. Hastadan alınan mide biyopsi örnekleri uygun kaplarda ve uygun ortam sağlanarak hızlı bir şekilde laboratuvara gönderilir. Laboratuvarda kısa süre içinde ekim yapılır. *H.pylori* kanlı agarda küçük koloniler şeklinde, yarısaydam, gri renkte görünürler [86,88,90].

Hızlı üreaz testi (HÜT)

Hastadan alınan mide biyopsi örnekleri üre içeren besiyerine konulur. *H.pylori* tarafından üretilen üreaz enzimi sayesinde ortamdaki üre, amonyak ve bikarbonata parçalanır. Açığa çıkan amonyak pH'ın yükselmesine neden olur. Renk indikatörü (fenol kırmızısı) ile ortam pembe renk alır. Bu da *H.pylori*'nin varlığına işaret eder [86,88,90].

Moleküler tanı testleri

Hastadan alınan mide biyopsi örneklerinde, *H.pylori*'nin farklı hedef genlerine yönelik PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi uygulanması işlemine dayanır [86,88,90].

2.3.3 Tedavi

H.pylori'nin tedavisindeki amaç, bakteriyi tamamen yok etmektir. Bu amaç doğrultusunda günümüzde tek bir antikor yoktur. Hastaya verilen tedaviler ise; PPI + klaritromisin + amoksisilin veya PPI + metronidazol + amoksisilin ' dir. Tedavi 8-14 gün sürmektedir. Bakterinin direncine göre tedavi süresi ve tedavi şekli değişim göstermektedir [91].

2.4 Epstein Barr Virüsü

2.4.1 Tarihçe

EBV ile ilgili ilk bilgiler 1957 yılında Uganda'da çalışan Cerrah Denis Parson Burkitt tarafından tespit edilmiştir. Doktor Denis Parson Burkitt, Sahraaltı Afrika'da çocukları etkileyen çene kemiği kaynaklı tümörlerin lenfoma olduğunu tespit etmiş ve bunu Burkitt Lenfoma diye adlandırmıştır. Hastalardan alınan örnekler İngiltere'nin Londra kentindeki Middlesex Üniversitesi hastanesine (Middlesex Hospital Medical School) gönderilmiş fakat üretilenmemiştir. Daha sonra Dr Anthony Epstein bu hastalığa sahip hastalardan alınan örnekleri elektron mikroskopunda incelemiş ve 1964 yılında Epstein, Achong ve Barr bu örneklerden hazırlanan, hücre kültürlerinden buldukları yeni herpes virüsünü Epstein Barr virüsü olarak tanımlamışlardır. 1968 yılında Niederman ve McCollum tarafından EBV'nin Enfeksiyöz Mononükleoz (EM) ile ilişkisi tanımlanmıştır. Ayrıca 1970'li yıllarda EBV'nin B lenfositlerini transforme ederek başka tümörlerle de ilişkisi ortaya konmuştur. Böylelikle ilk insan tümör virüsü olduğu kabul edilmiştir [92-100].

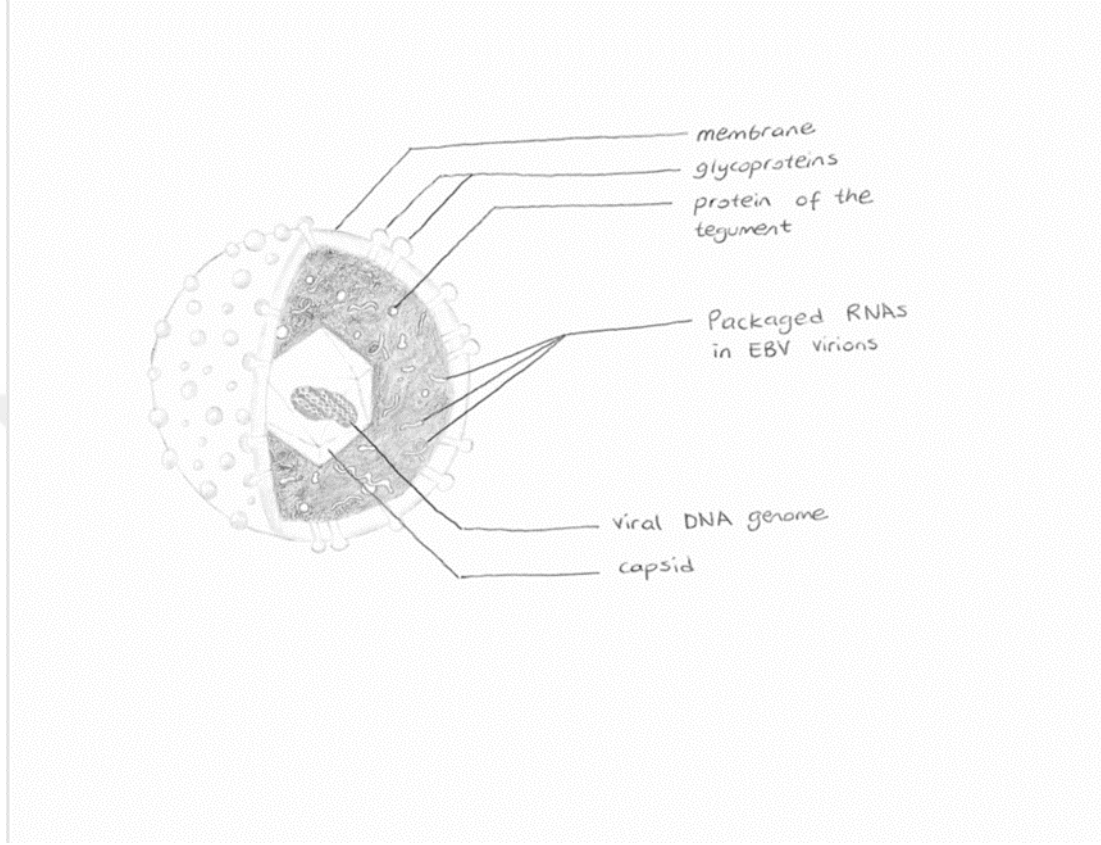
2.4.2 Sınıflandırma

EBV, İncertae sedis sınıfında, Herpesviridae ailesinin, Gammaherpesvirinae alt ailesinde bulunan Lymphocryptovirus cinsinin Human gammaherpesvirüs 4 türüdür [101].

2.4.3 Yapısı ve özellikleri

EBV; Lipitten zengin bir zarfla çevrilidir. Membranındaki lipid zarf yapısında gömülü viral glikoproteinleri bulunmaktadır. 184 kbp boyutunda çift dallı DNA molekülüne sahiptir. Bu DNA'sı 162 kapsomerden oluşan ikozahedral yapıda kapsid ile çevrilidir.

Herpes virüslerde kapsid ve zarf arasında uzanan, amorf protein tabaka olan tergüment bulunmaktadır (Şekil 2.15).



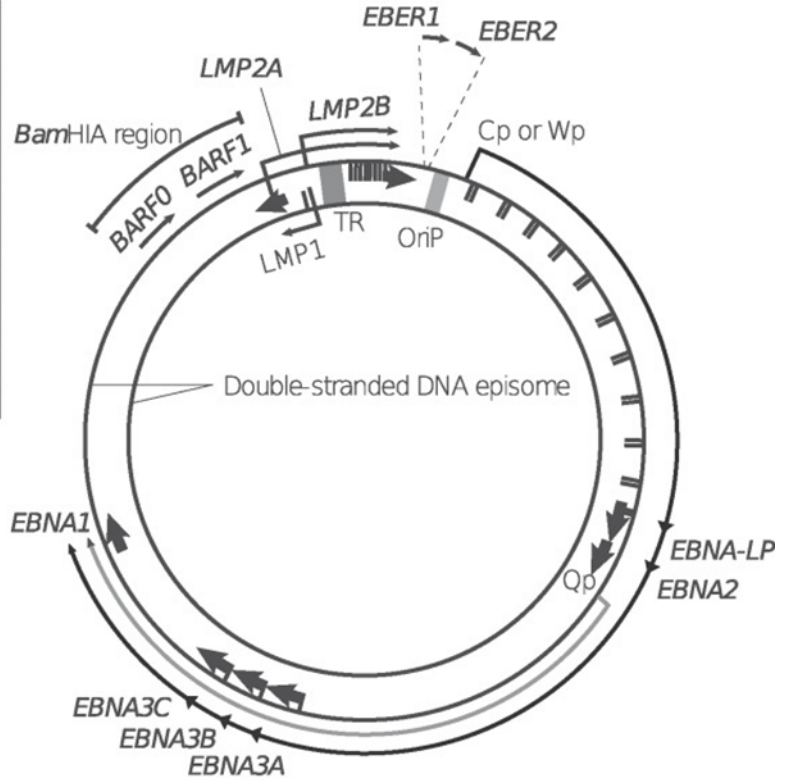
Şekil 2.15 : EBV'nin şematik görüntüsü.

Genomda art arda tekrarlayan bölgeler bulunur. Bu bölgeler üzerinde de EBV suşlarını ayırt edebilen özel bölgeler bulunmaktadır. Genom üzerinde açık okuma bölgeleri(ORF) genellikle genom parçaları ile ilişkili, yerini belirten dört harf ve sayı ile tanımlanır (Şekil 2.16). İnsanlarda EBNA genindeki polimorfizme göre; EBV1 ve EBV2 olarak veya TipA ve TipB olarak iki tipi belirlenmiştir [104-107].

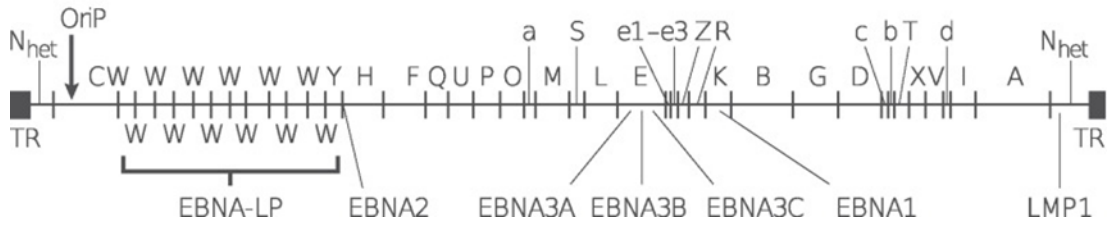
a EBV electron micrograph



b EBV genome: latent genes



c Open reading frames for the EBV latent proteins



Şekil 2.16 : EBV genomu [108].

EBV enfeksiyonu yolakları 3'e ayrılmaktadır [102].

- Litik enfeksiyon
- Latent enfeksiyon
- Transformasyona neden olabilen enfeksiyon, B lenfositlerin ölümsüzleştirilmesi

EBV antijenleri

EBV antijenleri eksprese oldukları viral siklus fazına göre 3 gruba ayrılır.

Latent faz antijenleri

Latent olark enfekte hücrelerde sentezlenen antijenlerdir. EBV genomunun varlığına işaret eder [109-113].

- **EBNA1** : Epizomal EBV genomunun onarımı, replikasyonunda DNA'yı kromozoma bağlaması ve B lenfositlerinin ölümsüzleşmesi için gereklidir. Kısaca enfeksiyonun devamı için gereklidir. Yeterli DNA replikasyonunu desteklemesi için virusun genomundaki cis etkili eleman oriP ile etkileşime geçer.
- **EBNA2**: B hücrelerinin immortalizasyonu için gereklidir. B hücre aktivasyon genlerini aktive eder(CD21 VE CD23).
- **EBNA3**: Transkripsiyonel düzenleyicilerdir. EBNA2 tarafından aktive edilen genleri baskılayarak dengeyi sağlar.
- **LMP1**: Plazma mebranında yer alan bu protein EBNA2 tarafından aktive edilir. B lenfositlerinin ölümsüzleşmesinde ve sürekli proliferasyonunda görevlidir. Adezyon molekülü olan CD23 ve CD40'ı artırarak B hücre aktivasyonunu ve DNA sentezini temin eder.
- **LMP2A ve LMP2B** : Hücre membranında bulunur. Litik viral enfeksiyonu bloke eder ve böylelikle latent kalmasını sağlar.
- **EBERs** : EBV kodlayan RNA'lardır. Latent fazın tüm evrelerinde eksprese edilir.

Erken başlangıç antijenleri (IEA)

Yapısal olmayan proteinler olup, DNA replikasyonuna bağımlı değildir. Bu antijenlerin varlığı viral replikasyonun başladığını belirtir. Bazı erken genlerin transkripsiyonunda görev alır[94] .

Erken Antijenler(EA)' in iki formu bulunur;

- Erken Antijen-Diffüz (EA-D): Yaygındır, enfekte hücrenin sitoplazmasında ve nükleusunda bulunur.
- Erken antijen restricted (EA-R): Sınırlıdır, enfekte hücrenin sadece nükleusunda bulunur.

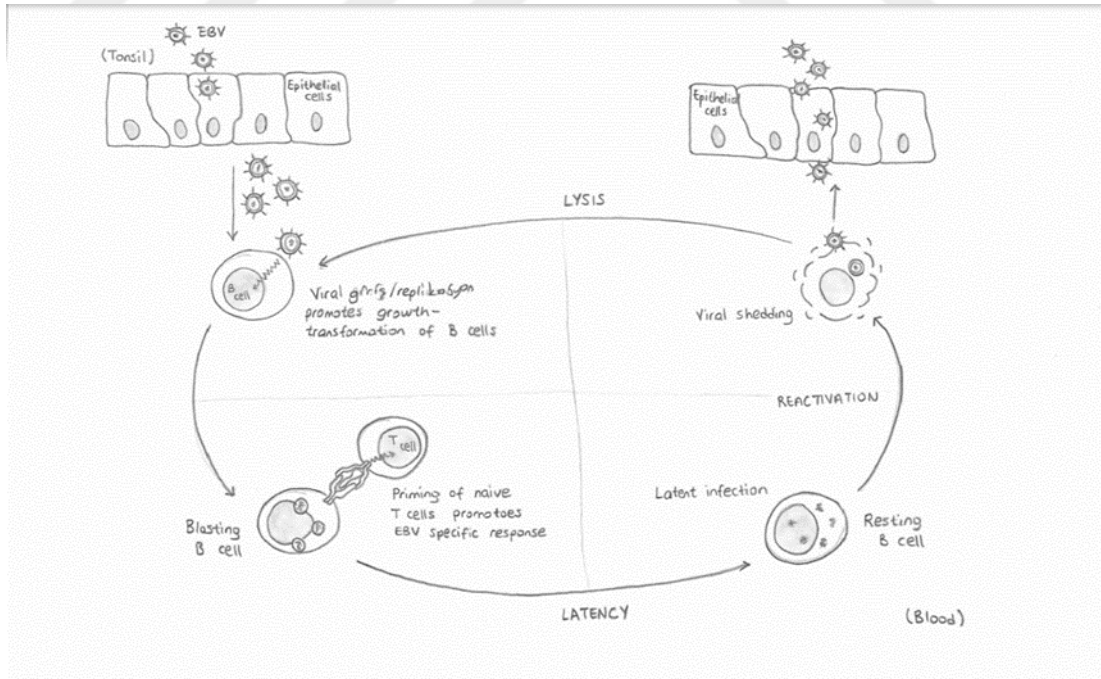
Geç antijenler

Bu antijenler virüsün kapsid yapısını meydana getiren Viral Kapsid Antijeni (VCA) ve zarf yapısını meydana getiren Membran Antijenleridir (MA). Özellikle viral enfeksiyon geçiren hücrelerde sentezlenir [94,106].

- **VCA:** Litik enfeksiyonun geç döneminde sentezlenir. Çekirdekte viriyonların toparlanıp, konak hücreden salınmasından sorumludur.
- **MA:** Virüsün enfekte etmesinde ve yayılmasında görev alır.

2.4.4 Patogenezi

İnsandan insana üst solunum yolları sekresyonu ile (tükürük gibi) bulaşır [105]. Bu sebeple halk arasında ‘‘öpücük hastalığı’’ olarak da bilinir [94]. Yine EBV pozitif bireyden seronegatif bireye kan transfüzyonu, organ nakli ve cinsel ilişki ile de bulaş olabilir [64,94]. Oral yolla alınan EBV ilk önce orofaringeal epitel hücrelerinde öncü bir enfeksiyona sebep olur. Tonsil B lenfositleri de doğrudan enfekte olabilir. EBV, gp 350/200 zarf glikoproteinine ve ona spesifik reseptörü olan ve B lenfositleri ile nazofarinks epitel hücrelerinde bulunan CD21 molekülüne bağlanır ve hücreye girer. EBV, B hücrelerinin büyümesini uyarır ve apoptozu engeller. Virüs, B hücrelerinin çoğalmasımı kontrol eden T hücrelerinin yokluğunda, B hücrelerini ölümsüzleştirerek çoğalmasına sebep olur. Çoğalan virüsler hücreleri parçalar ve açığa çıkan virüsler retikuloendotelyal sisteme (RES) ulaşıp hücresel ve humoral immüniteyi aktifleştirir (Şekil 2.17) [94-114].



Şekil 2.17 : EBV'nin yaşam döngüsü.

Başka bir EBV yüzey glikoprotein olan gp42 ise, B hücreli enfeksiyonlarda koreseptör olarak görev alan MHC sınıf II (Major histocompatibility complex, Ana histouyumluluk kompleksi) moleküllerine bağlanır. Hücresel immünite yanıt, baskın şekilde CD8 T lenfositleri ile beraber, bundan daha az oranda CD4 T lenfositleri ve doğal öldürücü (NK) hücreleri ile gelişir. Akut EBV enfeksiyonunda semptomların klinik olarak belirgin olduğu dönemde, hasta serumunda VCA' ya karşı immunoglobülin yapısında antikorlar oluşur (IgM, IgA, IgG). Hastalığın akut döneminde ilk ortaya çıkan ve 3 ay boyunca serumda saptanan, IgM yapısında olan ve EBV proteinleri ile çapraz reaksiyon vermeyen antikorlar değeri yüksek çıkar. Yine IgA değeri akut dönemde yükselir daha sonra düşer. IgG antikorları ise semptomlar başladıktan sonra saptanıp, ömür boyu kalıcılığı vardır [107,110].

2.4.5 EBV ilişkili hastalıklar

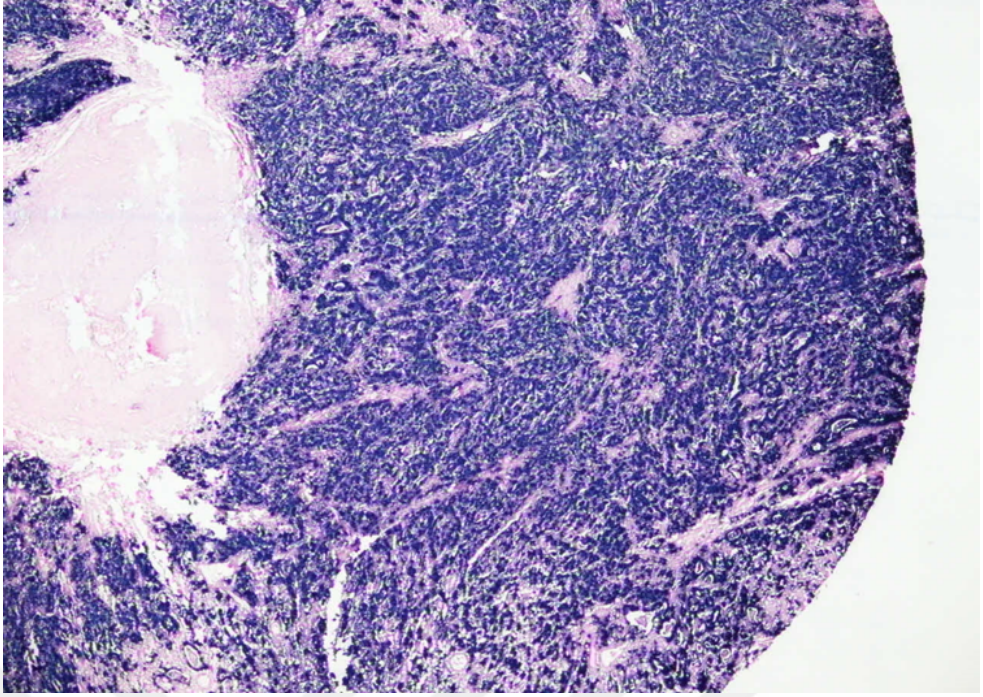
EBV ile ilişkili malign olmayan hastalıklar

EBV ilişkili vakaların birçoğunda enfeksiyon kendini Enfeksiyöz Mononükleoz (EM) olarak göstermektedir. EM' de inkubasyon sonrası faranjit, yorgunluk, ateş ve boyundaki lenf nodlarında büyüme gibi klinik belirtiler görülmektedir. Kronik aktif enfeksiyon, oral hairy lökopeni, virüs ile ilişkili hemofagositik sendrom diğer malign olmayan hastalıklardır [99].

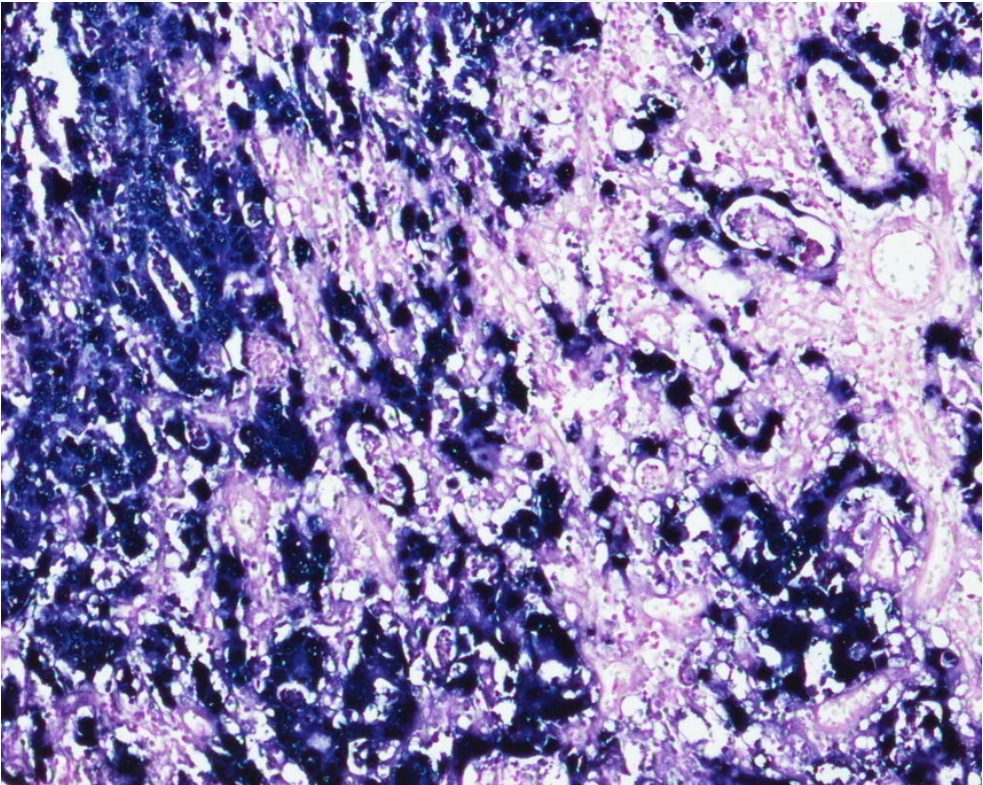
EBV ile ilişkili malign hastalıklar

EBV'nin asıl önemi çeşitli kanserlere sebep olabilmesidir. EBV ile ilgili maligniteler üç kategoride sınıflandırılabilir [111];

- Lenfoproliferatif hastalıklar; Burkitt Lenfoma, Hodgkin Lenfoma, Post Transplant lenfoproliferatik hastalık,
- Epitelial kanserler; Nazofaringeal karsinom, Gastrik karsinom(şekil 2.18-19),
- Sarkomlar ve diğer yumuşak doku tümörleri.



Şekil 2.18 : EBER x200 FISH.



Şekil 2.19 : EBER x400 FISH.

2.4.6 Epidemiyoloji

EBV, dünya genelinde yetişkin bireylerin %90'ında seropozitif olarak görülür. İnsandan insana öncül bulaş yolu üst solunum yolları sekresyonları ile olmaktadır. Gelişmekte olan ve gelir düzeyi düşük ülkelerde enfeksiyonlar erken yaşta ortaya çıkmaktadır. Erken yaşlarda enfeksiyon semptom göstermez. EBV pozitif vakaların çoğunda enfeksiyon EM şeklinde kendini göstermektedir [105-107].

2.4.7 Tanı ve Tedavi

Tanı

EBV tanısı için kullanılan yöntemler [112-122] ;

- **Elektron mikroskopi:** Her laboratuvarında olmaması ve bu konuda deneyimli insanların azlığı sebebi ile rutin işlemlerde tercih edilen bir yöntem değildir.
- **Antijen saptama:** EBV ile enfekte olmuş tüm hücrelerde eksprese edilen tek antijen EBNA-1' dir. EBNA-1 i saptamada kullanılan en iyi yöntemse immünflorasan yöntemidir. Latent ve litik enfeksiyonun ayrımını yapmada, latentlik tipini değerlendirmede ve EBV ile ilişkili malignitelere immunohistokimyasal yöntemler tercih edilir.
- **İzolasyon:** Rutin bir işlem olmamakla beraber daha çok araştırma amaçlı kullanılmaktadır. Bu işlem için taze ayrılmış insan kordon lenfositleri, filtre edilmiş ve hücreden arındırılmış tükürük ve boğaz çalkantı örnekleri inoküle edilerek 4 hafta gözlem yapılmaktadır. Viral izolatların her biri EBNA 2 ve 3 genlerindeki polimorfizm göz gönüne alınarak moleküler yöntemler ile tanımlanır.
- **Serolojik testler:** Heterofil antikor testleri: Paul-Bunnell ve monospot testlerdir.
- **EBV'ye özgü antikor testleri:** Bu testler VCA'ya, EA'ya (EA-D ve EA-R) ve EBNA antijenlerine karşı antikorları saptayabilmektedir. İmmünflorasan yönteminde virüs ile enfekte olmuş B hücrelerinin ürettiği P3HR-1 ya da Raji gibi hücreler kullanılmaktadır. Bu testin duyarlılığı yüksektir. Bir diğer test ELISA'dır. EBNA-1 antikorları bu yöntemle daha hızlı çalışılmaktadır bu

nedenle kullanımı daha yaygındır. ELISA'nın çalışma prensibi ise, bir numunedeki antijen ya da antikorun, bilinen ve molekülleri birleşebilen bir antikor kullanılarak enzim ile işaretlenmesine dayanmaktadır. İmmunoblot testler ise, jel elektroforezi ile proteinlerin ayrıştırılması, bunların bir filtre üzerine transferi ve hastanın serumu ile karşılaştırıldıklarında ayrıştırılmış proteinler ile alınan reaksiyonun değerlendirilmesi işlemine dayanmaktadır. Yüksek özgüllüğe sahiptir. EBV VCA IgG Avitide testleri, Anti-EBNA1 negatif vakalarda ve geçirilmiş enfeksiyon ayırımında kullanılır. Enfeksiyonun başlangıcında düşük olan IgG antikorları zamanla olgunlaşarak daha güçlü bağlanma özelliği olan yüksek aviditeli antikorlara dönüşürler.

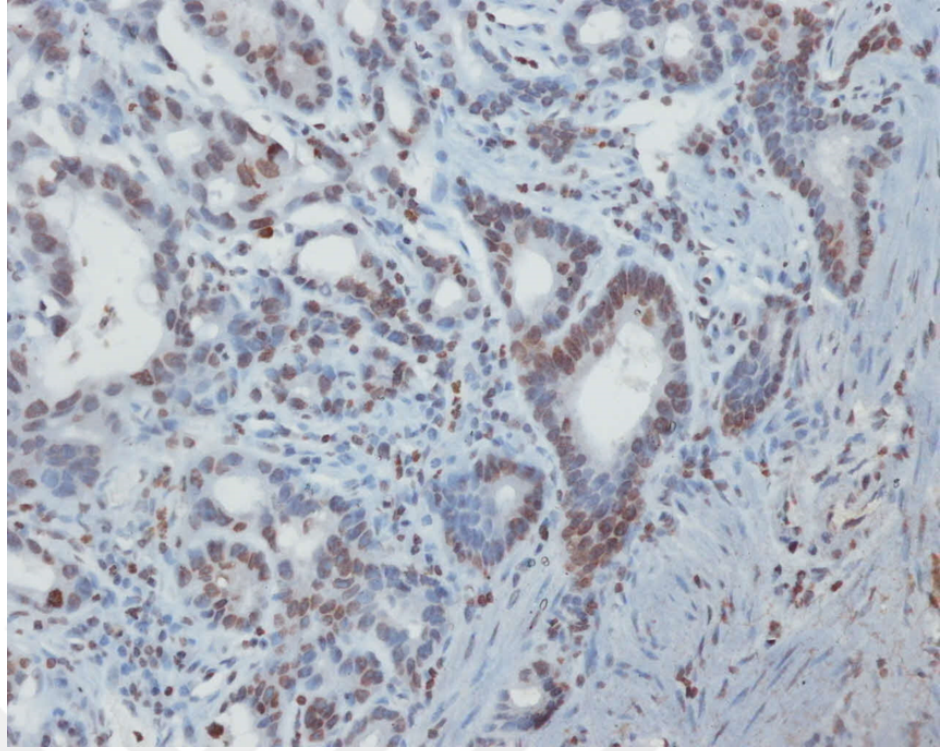
- **Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri:** Dokuda EBV tarafından kodlanan RNA'nın (EBER) in situ hibridazasyon yöntemi ile ve kanda EBV DNA'nın değerlendirilmesi yapılmaktadır. Bu değerlendirmede iki prob kullanılmaktadır. Birincisi BamH1 W bölgesidir. EBV enfekte hücrelerde kopya sayısı fazla olarak kendini gösterir. İkincisi ise, LMP-1 genidir.

Tedavi

EBV enfeksiyonunda tedaviler genellikle destek tedavisidir. Bu alanda antiviral kullanımı ile yeterli bilgi yoktur. Bol sıvı alımı, dinlenme ve non steroid antienflamatuvar ilaçlar kullanımı önerilir [94,116].

2.5 p73 Geni

Kromozom üzerindeki lokasyonu. 1'inci kromozomun kısa kolunun 36.32 bandındadır (1p36.32). Bu gen, stres ve gelişim için hücrel tepkilerde rol oynayan p53 transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesini kodlar. Nöroblastom ve diğer tümörlerde sıklıkla silinen ve çoklu tümör baskılayıcı genleri içerdiği düşünülen 1p36 kromozom bölgesindedir. Bu genin monoalel olarak eksprese edildiğinin gösterilmesi (muhtemelen maternal alelden), bunun nöroblastom için aday bir gen olduğu fikrini desteklemektedir. Bu gen için alternatif ekleme ve / veya alternatif promotörlerin kullanımından kaynaklanan birçok transkript varyantı bulunmuştur. Ancak bu varyantların biyolojik önemleri tam olarak belirlenememiştir (Şekil 2.20) [19-21].



Şekil 2.20 : p73 antikoruna x200 İHK.

3. MATERYAL VE METOD

2013-2019 yılları arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hastanesi patoloji laboratuvarına gelen karsinom nedeni ile opere edilen 111 adet total veya subtotal gastrektomi piyesi ve kontrol grubu için obezite nedeni ile opere edilen 110 adet sleeve gastrektomi piyesi incelenmiştir. Olguların arşivde bulunan Hematoksilen-Eosin ve Giemsa ile boyalı tüm kesitleri ışık mikroskopunda tekrar değerlendirildi. Bu vakalardan uygun parafin bloklar seçilerek kesitler alındı. p73 immünohistokimyası için 2-4 mikronluk, EBER İSH için 4 mikronluk kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Bu kesitlere Ventana Benchmark XT ve Ventana Benchmark Ultra cihazlarında p73 ve EBER çalışıldı. Olgularımızın tümünde histopatolojik tümör tiplendirmesinde Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) ve Lauren sınıflandırmaları temel alınmıştır. Tümörler Lauren sınıflamasına göre intestinal ve diffüz tip olarak sınıflandırıldı. Lokalizasyonu distal ve proksimal olarak gruplandırıldı. Tümörün invazyon derinliği incelendi. Mide submukozası (pT1), kas tabakası (pT2), seroza (pT3) ve komşu dokulara (pT4) invazyonu olarak değerlendirildi. Lenf nodülleri incelendi, metastatik lenf nodu yok ise (N0), 1-6 adet lenf nodu metastaz varlığı (N1), 7-15 lenf nodu metastaz varlığı (N2), 15'den fazla lenf nodu metastaz varlığı (N3) olarak gruplandırıldı. Histopatolojik parametre olarak; tümörün tipi, tümörün derinliği, tümörün grade'i, vasküler invazyon, çevre lenf nodu metastazı, perinodal invazyon, perinöral invazyon değerlendirildi. Bu parametreler, tümördeki *H.pylori* ve EBV varlığı, p73 antikorunun boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu ile karşılaştırıldı.

3.1 EBER

3.1.1 Kullanım amacı

INFORM EBER (Epstein-Barr Virus Early RNA) Probe ürünü, in situ hibridizasyon (ISH) ve ışık mikroskopisi yoluyla formalinle sabitlenmiş parafine gömülü doku kesitlerinde Epstein-Barr ile kodlanmış RNA (EBER) eksprese eden hücrelerin tespit edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. INFORM EBER Probe spesifik olarak EBER

RNA transkriptleriyle hibridize olmaktadır. Pozitif sonuçlar, Epstein-Barr Virüsü ile enfekte olmuş hücrelerin tespit edilmesini sağlamaktadır [123].

3.1.2 Kitin prensibi

INFORM EBER Probe, BenchMark XT ve BenchMark ULTRA aletlerinde ISH iVIEWBlue Detection Kit ve yardımcı reaktiflerle birlikte kullanım için formüle edilmiştir. Saptama kiti, bir primer antikor ve kromojenik enzim olarak kullanılan alkalın fosfataza (ALP) konjüge edilmiş biyotin ile konjüge sekonder antikor içermektedir. Floresan işaretli prob, Blue ISH boyama işlemi süresince, hücre veya dokulardaki spesifik hedef RNA dizilerine hibritlenir. Bu adımı, sekonder antikor üzerindeki biyotine bağlanan bir Streptavidin-ALP (alkali fosfataz) enzim konjugatının eklenmesi takip etmektedir. Ardından floresan işaretli prob, ışık mikroskopisi ile kolayca saptanan mavi bir presipitat oluşturan 5-Bromo-4-kloro-3-indolil fosfat (BCIP) ve nitro blue tetrazolium (NBT) ile görüntülenir. Boyama protokolü, reaktiflerin belli sıcaklıklarda, önceden belirlenen sürelerde inkübe edildiği birçok adımdan oluşur. Her enkübasyon adımının sonunda, BenchMark XT veya BenchMark ULTRA cihazı bağlanmayan materyali uzaklaştırmak için kesitleri yıkar ve slayttan sulu reaktiflerin buharlaşmasını en aza indiren sıvı lamelleme çözeltisi uygular. Sonuçlar bir ışık mikroskobu kullanılarak yorumlanır ve probun pozitif boyanması ile ilişkili olsun veya olmasın, patofizyolojik süreçlerin ayırıcı tanısına yardımcı olmaktadır [123].

3.1.3 Kullanılan malzemeler

INFORM EBER Probe reaktif içerir. Bir adet 5 mL INFORM EBER Probe dağıtıcı, formamid bazlı hibridizasyon içinde FISH bloklayan DNA ile formüle edilmiş, floresan işaretli yaklaşık 750 ng/mL prob kullanılmıştır [123].

3.1.4 Örnek hazırlama

Rutin olarak işlenmiş, formalinle sabitlenip parafine gömülmüş dokuların incelenmesi, BenchMark XT ve BenchMark ULTRA cihazları ile yapılmıştır. Önerilen doku sabitleyici, %10 nötr tamponlu formalindir (NBF). % 10 nötr tamponlu formalinle sabitlenip parafine gömülmüş bloklardan 4 µm'lik kesitler pozitif şarjlı lamlara alınmış, aynı lama yine 4 µm'lik kontrol dokusu da konmuştur. Lamlar cihaza

yerleştirildikten sonra cihazda işlem gören lamalar önce alkol sonra ksilen ile muamele edilerek en son Balsam yardımı ile lamel ile kapatılmıştır [123].

3.1.5 Kalite kontrol prosedürleri

Pozitif örnek kontrolü

Gerçekleştirilen her boyama prosedürü ile birlikte bir pozitif örnek kontrolü çalışılmıştır. Kontroller, probun doğru uygulandığını ve cihazın düzgün şekilde çalıştığını onaylamak için kullanılmıştır. Bu örnek, hem pozitif, hem de negatif boyanma hücreleri veya doku bileşenleri içermiştir. Hasta örneğinden farklı şekilde sabitlenmiş veya işlenmiş bir örnek kullanılması, sadece reaktifin ve cihazın düzgün şekilde çalıştığını doğrulamak için uygun bir kontrol sağlamıştır. Zayıf pozitif boyanma gösteren bir örnek, optimum kalite kontrolü ve minör seviyedeki reaktif bozulmasının saptanması için güçlü pozitif boyamadan daha uygundur. Pozitif kontroller pozitif boyamayı göstermiyorsa, test örnekleriyle alınan sonuçlar geçersiz sayılmıştır. Yapılan her boyama prosedüründe laboratuvara özgü pozitif örnek kontrolü yapılması önerilmiştir. Kontrol örnekleri bir bakıma hasta örneklerine eş hazırlanmış biyopsi örnekleri olduğundan test örneklerine ait sonuçların aynı işlemde analiz edilmesi gerekmiştir [123].

Negatif örnek kontrolü

Gerçekleştirilen her boyama prosedürü ile birlikte bir negatif örnek kontrolü çalışılmıştır. Amaç, hücrel bileşenlere karşı istenmeyen çapraz prob ve antikör reaktivitesini izlemektir. Pozitif örnek kontrolünde kullanılan doku negatif doku kontrolünde de kullanılabilir. Boyanmayan bileşenler, spesifik boyamanın olmadığını göstermiş ve bir arka plan boyama belirtisi sağlanmıştır [123].

Pozitif örnek kontrolü

Sabitlenme yöntemine ve örneğin işlem öncesi gördüğü işlemlere göre değişiklik gösterebilen RNA veya DNA bütünlüğünü değerlendirmek için her bir vaka ile birlikte veya sorun giderme işlemlerine pozitif kontrol probu gerçekleştirilmiştir [123].

Negatif reaktif kontrolü

Hasta sonuçlarının yorumlanmasına yardımcı olmak amacıyla ISH proba yedek olarak boyanan her örnek için negatif reaktif kontrolü yapılmıştır. Bu kontrol, her slayt için spesifik olmayan bir arka plan boyama belirtisi sağlamaktadır. ISH probe yerine slaydı

VENTANA ISH Negative Control veya Negative Control Probe ile boyanmıştır. Kontrollerin inkübasyon süresi prob ile uyumlu tutulmuştur. Negatif kontrol, özellikle bağırsakta görülen alkalın fosfataz, fırça sınırının bağırsak epitelial hücrelerinin dışında başka hücrelerde de görülebildiğinden dolayı önemlidir. Ayrıca, nitro blue tetrazolyumu indirgeyebilen enzimler, sabitleme sırasında korunabilmektedir [123].

3.1.6 Sonuçların yorumlanması

VENTANA otomatik slayt boyama prosedürü etiketli prob tarafından lokalize edilmiş hedeflenen DNA veya RNA sahalarında çökecek olan mavi renkli bir reaksiyon ürününü ortaya çıkarmaktadır. Sonuçlar yorumlanmadan önce, pozitif ve negatif kontroller ISH prosedürlerinde deneyimli uzman bir patolog tarafından değerlendirilmiştir.

Öncelikle ve tüm reaktiflerin doğru işlev görüp görmediğini kontrol etmek amacıyla, boyanmış pozitif kontrol incelenmiştir. Hedef hücrelerde mavi renkli reaksiyon ürününün varlığı, pozitif reaktivitenin göstergesidir. Reaksiyonun özgüllüğünü doğrulamak için pozitif kontrolden sonra negatif kontrol incelenmiştir. Negatif kontrolde spesifik herhangi bir boyanma olmamasına dikkat edilmiştir. Boyanma meydana gelirse, bu durum hücreler veya hücresel bileşenlere karşı spesifik olmayan çapraz reaktiviteye işaret edebilmektedir. Nekrotik veya bozulmuş hücrelerin çoğu zaman spesifik olmayan boyanması nedeniyle, boyama sonuçlarının yorumlanmasında bozulmamış hücreler kullanılmıştır.

Hasta örnekleri en son sırada incelenmiştir. Pozitif boyanmanın yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmiştir. Negatif sonuç, söz konusu DNA veya RNA dizisinin saptanmadığı anlamına gelmiş, test edilen hücrelerde dizinin eksik olduğu anlamında değerlendirilmemiştir. Bir ISH sonucu yorumlanırken, her bir örneğin morfolojisi hematoksilin ve eozinle boyanmış bir kesit kullanılarak da incelenmiştir [123].

3.2 P73

3.2.1 Kullanım amacı

Ventana Medical Systems' (Ventana) ultraView Universal DAB Detection Kit, fare IgG, fare IgM ve tavşan primer antikorlarını saptamak için dolaylı biotinsiz sistemdir.

Kitin amacı, formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş ve dondurulmuş doku kesitlerinde BenchMark, BenchMark XT ve BenchMark ULTRA cihazında boyanmış hedefleri immünohistokimyasal (IHK) ile belirlemektir. Bu ürün uzman bir patolog tarafından, histolojik inceleme, ilgili klinik bilgiler ve doğru kontrollerle birlikte değerlendirilmelidir. Bu ürün, in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir [124,125].

3.2.2 Kitin prensibi

UltraView Universal DAB Detection Kit, parafine gömülmüş doku kesitlerinde antijene bağlanan spesifik fare ve tavşan primer antikorlarını tespit etmektedir. Spesifik antikor enzim etiketli ikincil antikorların kokteyli tarafından yerleştirilir. Kompleks daha sonra ışık mikroskopuyla kolayca gözlenebilen kahverengi çökelti üreten hidrojen peroksit substratı ve 3, 3'-diaminobenzidin-tetrahidroklorür (DAB) kromojeniyle görüntülenir. Boyama protokolü reaktiflerin spesifik sıcaklıklarda ve önceden belirlenmiş süreler boyunca inkübe edildiği sayısız adımdan oluşmaktadır. Her inkübasyon adımı sonunda, BenchMark, BenchMark XT ve BenchMark ULTRA cihazı bağlanmamış malzemeyi uzaklaştırmak için kesitleri yıkar ve sulu reaktiflerin slayttan buharlaşmasını minimuma indiren sıvı lameli uygular. Sonuçlar ışık mikroskopuyla yorumlanır ve belirli bir antijenle ilişkisi olabilen ve olmayabilen patofizyolojik süreçlerin diferansiyel tanısına yardımcı olur [124,125].

3.2.3 Kullanılan malzemeler

ultraView Universal DAB Detection Kit 250 test için yeterli reaktif içermektedir.

Bir adet 25 mL'lik dispenser ultraView Universal DAB Inhibitor %3 hidrojen peroksit solüsyonu,

Bir adet 25 mL'lik dispenser ultraView Universal HRP Multimer, bir koruyucu olan ProClin 300 ve protein içeren bir tamponda HRP işaretli antikorların (keçi anti-fare IgG, keçi anti-fare IgM ve keçi anti-tavşan) (<50 µg/mL) kokteylini,

Bir adet 25 mL'lik dispenser ultraView Universal DAB Chromogen, özel koruyuculu özel stabilizör solüsyonunda %0,2 3, 3'-diaminobenzidin tetrahidroklorür,

Bir adet 25 mL'lik dispenser ultraView Universal DAB H2O2, fosfat tampon solüsyonunda %0,04 hidrojen peroksit içerir. Bir adet 25 mL'lik dispenser

ultraView Universal Copper, özel koruyucu ile asetat tamponda bakır sülfat (5 g/L) içermektedir.

Saptama kiti BenchMark, BenchMark XT, ve BenchMark ULTRA cihazında kullanılmak üzere optimize edilmiştir. Kit reaktifleri sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerektirmemektedir. Ayrıca seyreltilmesi, antijen boyamasının yitirilmesine neden olabilir. Kullanıcı bu tarzdaki değişiklikleri doğrulamalıdır. Laboratuarda doku işlemi ve ön inceleme prosedürü farklılıkları sonuçlarda önemli değişkenlik oluşturabilir [124,125].

Primer antikor; p73 ThermoFisher, katalog numarası: PA5-28931, 100µl, rabbit IgG, Polyclonal, (1:100 oranında dilue edildi).

Kontrol için doku, Amplikasyon kit (cihaz ile uyumlu), Protease 1 (cihaz ile uyumlu), Hematoksilen karşıt boya (cihaz ile uyumlu), Bluing reaktif (cihaz ile uyumlu), Reaction buffer konsantre (10X), Cell conditioning solüsyon (CC1), EZ prep konsantre (10X) solüsyon, Likid coverslip (yüksek sıcaklık), Benchmark ultra cihazı, pozitif yüklü mikroskop slaytları, barkod etiketleri, ksilen, etanol (histolojik derece), boyama kapları, distile su, dokuyu örtmek için film kapama kullanılır [124,125].

3.2.4 Örnek hazırlama

Kullanılan primer antikor için her kesit 2 µm kesilerek lama yerleştirilmiştir. Doku kesitini içeren lamalar 60 °C ±5 °C'lik bir etüvde en az 15 dakika kurutulmuştur. Antijeni eksprese eden düzgün fikse edilmiş ve gömülmüş dokular serin yerde depolanarak (15 °C–25 °C) stabil kalması sağlanmıştır. Barkod yazıcıdan prosedür barkodu çıkarılarak, lamın üst kısmına yapıştırılarak cihaza konmuş ve cihazda dokular 72 °C'de deparafinize edilmiştir. 90°C'de ısıtılarak 8 dakika hücre iyileştirme ile muamele edilmiş ve Antikor inkübasyon süresi 20 dakikaya ayarlanmıştır. Cihaz içindeki örneklerin çalışması bittikten sonra lamalar çıkarılarak deterjan ile yıkanmış, daha sonra %96'lık alkol ve ksilen ile muamele edilmiştir. Muamele edilen lamlara balsam damlatılıp, film ile kapatılmıştır. Bu işlemlerden sonra ışık mikroskopunda incelenme işlemine geçilmiştir [124,125].

3.2.5 Kalite kontrol prosedürü

Optimum laboratuvar uygulaması, hasta dokusuyla aynı slayda pozitif kontrol doku kesitinde konulmasıdır. Bu uygulama, hasta test slaydına primer antikor veya diğer

kritik reaktifleri uygulamada bir hatayı belirlemeye yardımcı olmaktadır. Ayrıca, pozitif kontroller antijen ekspresyonuna göre seçilmektedir. Yetersiz hassasiyet nedeniyle yanlış negatif sonuçları önlemek için düşük antijen ekspresyonu seviyeleri önerilmektedir. Zayıf pozitif boyalamalı doku optimum kalite kontrolü ve küçük reaktif azalma seviyelerini tespit etmek için daha uygundur. Her boyama prosedürü gerçekleştirildiğinde pozitif doku kontrolü yapılmıştır. Optimum laboratuvar uygulaması, hasta dokusuyla aynı slayda pozitif kontrol doku kesiti de konulmuştur. Bu uygulama, primer antikora uygulanan hatayı ya da diğer kritik hasta testi slaydı reaktifini belirlemeye yardımcı olmuştur. Zayıf pozitif boyamalı doku optimum kalite kontrolü için daha uygundur. Pozitif boyama dokusu bileşenleri, antikorun doğru uygulandığını ve cihazın düzgün şekilde çalıştığını onaylamak için kullanılmıştır. Test örneklerinden farklı şekilde fikse edilen veya işlenen doku kesitinin kullanımı, fiksasyon ve doku işleme dışında tüm reaktif ve yöntem adımları için kontrol sağlanmıştır. Bilinen pozitif doku kontrolleri, hasta örneklerinin spesifik tanısının belirlenmesi için bir yardımcı olarak değil, yalnızca işlenen dokuların ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için kullanılmıştır. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyamayı göstermiyorsa, test örnekleriyle alınan sonuçlar geçersiz sayılmıştır [124,125].

3.2.6 Sonuçların yorumlanması

ultraView Universal DAB Detection Kit, primer antikor tarafından bulunan antijen yerlerinde çökelen kahverengi renkli reaksiyona neden olmaktadır. İmmünohistokimyasal prosedürlerde sonuçları yorumlamadan önce kontroller değerlendirilmiş ve boyanan ürün nitelendirilmiştir [124,125].

3.2.7 İstatiksel analiz

İstatiksel analiz SPSS 21.0 for Windows (SPSS, Inc.; Chicago, USA) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı değerler sayı (n), yüzde (%), ortalama (mean), standart sapma (SS), ortanca (median) olarak belirtilmiştir. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare ve Fisher'in kesin testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenler, Kolmogorov-Smirnov ve Shaphiro-Wilk testleri ile yapılan normallik değerlendirmesine göre normal dağılıma uyduğu yerlerde parametrik testler (independent samples t testi, ANOVA testi) ile normal dağılıma uymadığı yerlerde ise

nonparametrik testler (Mann-Whitney U testi, Kruskal Wallis testi) ile karşılaştırılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.



4. BULGULAR VE SONUÇ

Çalışmaya total veya subtotal mide tümörü ile opere edilen 111 hasta ve tümörsüz sleeve gastrektomili 110 kontrol hastası dâhil edilmiştir. Kontrollerin tamamında p73 negatiftir. Yine kontrollerin 22 tanesinde *H. pylori* pozitif, 4 tanesinde EBV pozitif iken, hiçbirinde aynı anda HP ve EBV pozitif değildir. Gastrik karsinomalı hasta grubundakilerin %68,5'i erkek iken, %35,1'inde p73 negatif, %25,2'sinde zayıf, %16,2'sinde orta ve %23,4'ünde kuvvetli yoğunlukta pozitifdir. Tümör evreleri incelendiğinde %15,3'ünün evre I, %12,6'sının evre II, %65,8'inin evre III ve %6,3'ünün evre IV olduğu görülmüştür. Tümörler %72,1 diffüz tipteyken %27,9 intestinal tiptedir. Tümör yerleşimi %51,4 ile en sık distal bölgededir. Onu %45,9 ile proksimal ve %2,7 ile korpus bölgesi takip etmektedir. İnvazyon durumlarına bakıldığında tümörlerin %75,7 lenfatik, %56,1 kan damarı, %73,5 perinöral ve %37,0 pleksus invazyonu yaptıkları görülmüştür. %81,9 lenf nodu tulumu vardır. %36,9 hastada *H. pylori* ve %7,2 hastada EBV pozitifdir.

Tablo 4.1 : Hasta grubunun tanımlayıcı özellikleri.

	n	%
Cinsiyet		
Erkek	76	68,5
Kadın	35	31,5
p73 yoğunluk yüzde		
Negatif	39	35,1
Zayıf	28	25,2
Orta	18	16,2
Kuvvetli	26	23,4
Evre		
I	17	15,3
II	14	12,6
III	73	65,8
IV	7	6,3
Lauren evre		
Diffüz tip	80	72,1
İntestinal tip	31	27,9
Tümör yerleşimi		
Proksimal	51	45,9
Korpus	3	2,7
Distal	57	51,4
Lenfatik invazyon		
Yok	27	24,3
Var	84	75,7
Kan damarı invazyonu		
Yok	36	43,9
Var	46	56,1
Perinöral invazyon		
Yok	22	26,5
Var	61	73,5
Pleksus invazyonu		
Yok	46	63,0
Var	27	37,0
Lenf nodu tutulumu		
Yok	15	18,1
Var	68	81,9
HP		
Negatif	65	63,1
Pozitif	38	36,9
EBV		
Negatif	103	92,8
Pozitif	8	7,2

n=sayı, %=sütun yüzdesi

Tablo 4.2’de hasta grubunda yaş ve tümör çapı ölçümlerine ait tanımlayıcı değerler verilmiştir. Buna göre; ortalama hasta yaşı $64,14 \pm 11,30$ (ortanca yaş=66) iken, ortalama tümör çapı $5,52 \pm 2,86$ (ortanca=5 cm) cm’dir.

Tablo 4.2 : Hasta grubunda yaş ve tümör çapı ölçümlerine ait tanımlayıcı değerler.

	Yaş	Tümör Çapı (cm)
n	111	111
Ortalama	64,14	5,52
Standart sapma	11,30	2,86
Ortanca	66	5,0
Minimum	34	0,7
Maksimum	86	14,0

n=sayı

Hasta grubunda yer alan kişilerin %35,1'inde p73 negatif bulunmuşken, %25,2'sinde zayıf, %16,2'sinde orta ve %23,4'ünde ise kuvvetli pozitiftir. Buna karşın, kontrol grubundakilerin tamamında (%100,0) p73 negatiftir. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$) (tablo 3).

Tablo 4.3 : Hasta ve kontrol gruplarının p73 yoğunluğu açısından karşılaştırılması.

p73 yoğunluğu	Grup			
	Gastrik karsinom hastası		Kontrol	
	n	%	n	%
Negatif	39	35,1	110	100,0
Zayıf	28	25,2	0	0,0
Orta	18	16,2	0	0,0
Kuvvetli	26	23,4	0	0,0

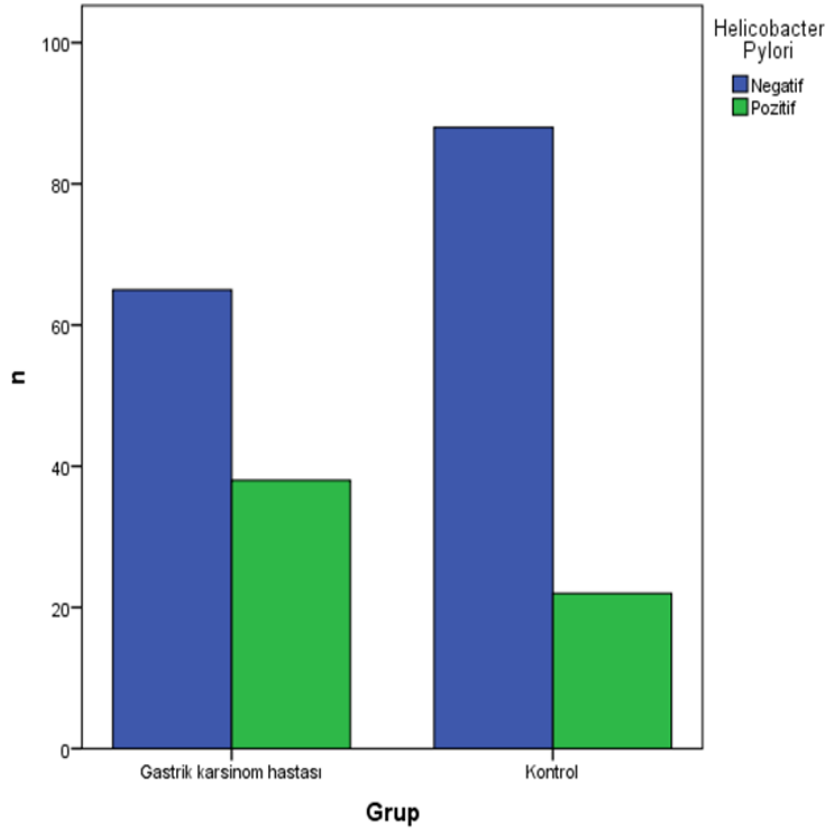
Pearson Ki-kare=105,830, $p<0,001$, n=sayı, %=sütun yüzdesi

Tablo 4.3'te hasta ve kontrol gruplarının *H. pylori* pozitifliği açısından karşılaştırılması verilmiştir. Hasta grubundakilerin %36,9'unda, kontrol grubundakilerin ise %20,0'sinde *H. pylori* pozitif saptanmıştır. Hasta grubundaki pozitiflik yüzdesi, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksektir ($p=0,006$). Şekil 4.1'de hasta ve kontrol gruplarının *H. pylori* pozitifliği açısından dağılımlarına ait çubuk grafik verilmiştir.

Tablo 4.4 : Hasta ve kontrol gruplarının *H. pylori* pozitifliği açısından karşılaştırılması

		Grup				Toplam	
		Gastrik karsinom hastası		Kontrol			
		n	%	n	%	n	%
HP	Negatif	65	63,1	88	80,0	153	71,8
	Pozitif	38	36,9	22	20,0	60	28,2
Toplam		103	100,0	110	100,0	213	100,0

Pearson Ki-kare=7,502, **p=0,006**, n=sayı, %=sütun yüzdesi



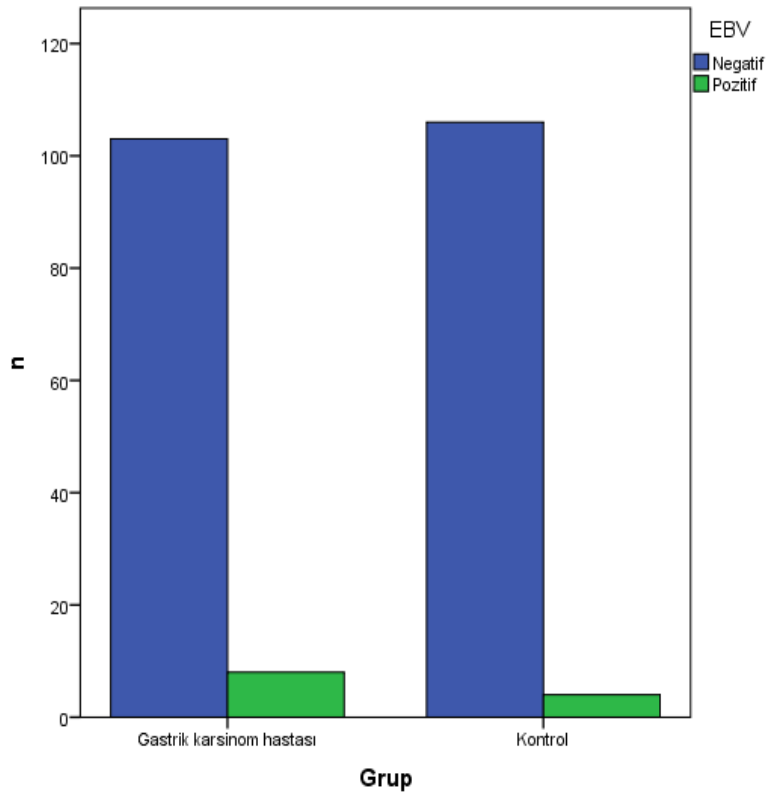
Şekil 4.1 : Hasta ve kontrol gruplarının *H. pylori* pozitifliği dağılımları.

Tablo 4.5'te hasta ve kontrol gruplarının EBV pozitifliği açısından karşılaştırılması verilmiştir. Hasta grubundakilerin %7,2'sinde, kontrol grubundakilerin ise %3,6'sında EBV pozitif saptanmıştır. Gruplar arasındaki fark anlamlı değildir ($p=0,241$). Şekil 4.2'de hasta ve kontrol gruplarının EBV pozitifliği açısından dağılımlarına ait çubuk grafik verilmiştir.

Tablo 4.5 : Hasta ve kontrol gruplarının ebv pozitifliği açısından karşılaştırılması.

		Grup				Toplam	
		Gastrik karsinom hastası		Kontrol		n	%
EBV	Negatif	n	%	n	%	n	%
		Pozitif	8	7,2	4	3,6	12
Toplam		111	100,0	110	100,0	221	100,0

Pearson Ki-kare=1,372, p=0,241, n=sayı, %=sütun yüzdesi



Şekil 4.2 : Hasta ve kontrol gruplarının EBV pozitifliği dağılımları.

Tablo 4.6'da hasta grubunda tümör evrelerine göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir.

Evre 1 tümörü olanlarda p73 %47,1 sıklıkta negatif, %29,4 sıklıkta zayıf, %5,9 sıklıkta orta ve %17,7 sıklıkta kuvvetli pozitifdir.

Evre 2 tümörü olanlarda p73 %42,9 sıklıkta negatif, %14,3 sıklıkta zayıf, %7,1 sıklıkta orta ve %35,7 sıklıkta kuvvetli pozitifdir.

Evre 3 tümörü olanlarda p73 %31,5 sıklıkta negatif, %24,7 sıklıkta zayıf, %19,2 sıklıkta orta ve %24,7 sıklıkta kuvvetli pozitiftir.

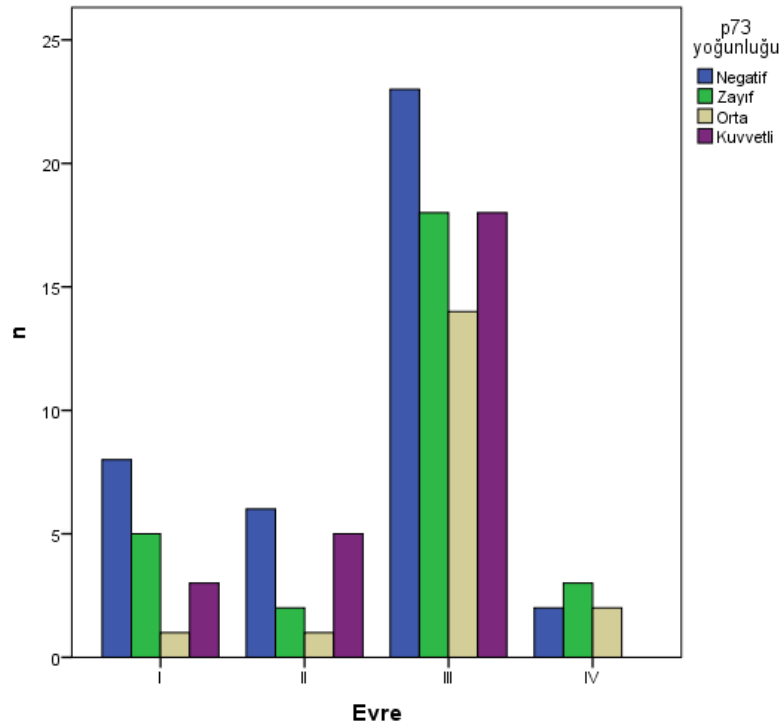
Evre 4 tümörü olanlarda p73 %28,6 sıklıkta negatif, %42,9 sıklıkta zayıf, %28,6 sıklıkta orta ve %0,0 sıklıkta kuvvetli pozitiftir.

Tümör evreleri arasında p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktur (p=0,470). Şekil 4.3'te tümör evrelerinin p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir.

Tablo 4.6 : Hasta grubunda tümör evrelerine göre p73 yoğunluğu.

	Evre			
	I	II	III	IV
p73 yoğunluğu				
Negatif n (%)	8 (47,1)	6 (42,9)	23 (31,5)	2 (28,6)
Zayıf n (%)	5 (29,4)	2 (14,3)	18 (24,7)	3 (42,9)
Orta n (%)	1 (5,9)	1 (7,1)	14 (19,2)	2 (28,6)
Kuvvetli n (%)	3 (17,7)	5 (35,7)	18 (24,7)	0 (0,0)

Pearson Ki-kare=8,655, p=0,470, n=sayı, %=sıra yüzdesi



Şekil 4.3 : Tümör Evrelerinin p73 Yoğunluğu Dağılımları.

Tablo 4.7'de hasta grubunda Lauren tümör evrelerine göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir.

Diffüz tip tümörü olanlarda p73 %33,8 sıklıkta negatif, %27,5 sıklıkta zayıf, %15,0 sıklıkta orta ve %23,8 sıklıkta kuvvetli pozitiftir.

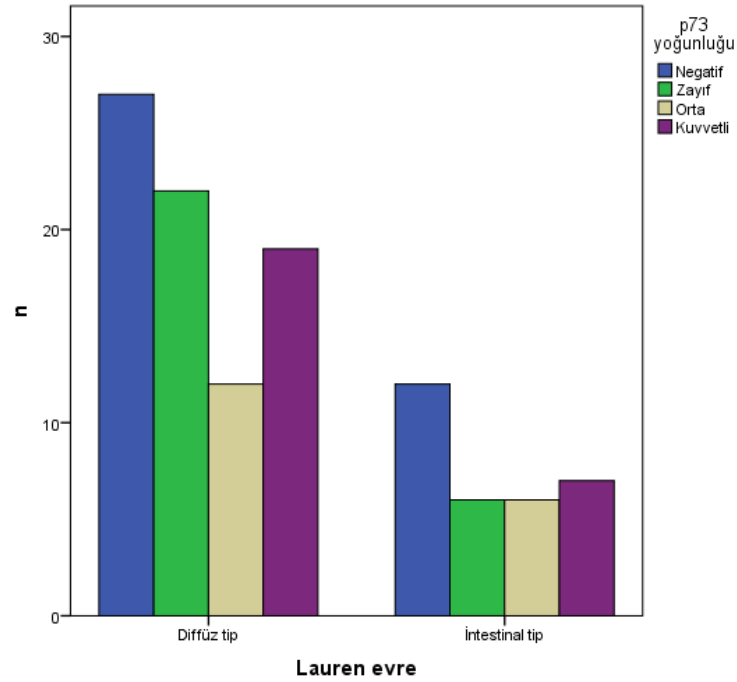
İntestinal tip tümörü olanlarda p73 %38,7 sıklıkta negatif, %19,4 sıklıkta zayıf, %19,4 sıklıkta orta ve %22,6 sıklıkta kuvvetli pozitiftir.

Lauren evreleri arasında p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktur (p=0,797). Şekil 4.4'te Lauren evrelerinin p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir.

Tablo 4.7 : Hasta Grubunda Lauren Tümör Evrelerine Göre p73 Yoğunluğu.

		Lauren evre			
		Diffüz tip		İntestinal tip	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	27	33,8	12	38,7
	Zayıf	22	27,5	6	19,4
	Orta	12	15,0	6	19,4
	Kuvvetli	19	23,8	7	22,6

Pearson Ki-kare=1,018, p=0,797, n=sayı, %=sütun yüzdesi.



Şekil 4.4 : Lauren evrelerinin p73 yoğunluğu dağılımları.

Tablo 4.8'de hasta grubunda tümör yerleşim yerine göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir. Proksimal yerleşimli tümörü olanlarda p73 %35,3 sıklıkta negatif, %25,5 sıklıkta zayıf, %15,7 sıklıkta orta ve %23,5 sıklıkta kuvvetli pozitiftir. Korpus yerleşimli tümörü olanlarda p73 %66,7 sıklıkta negatif, %33,3 sıklıkta zayıf, %0,0

sıklıkta orta ve %0,0 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. Distal yerleşimli tümörü olanlarda p73 %33,3 sıklıkta negatif, %24,6 sıklıkta zayıf, %17,5 sıklıkta orta ve %24,6 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. Tümör yerleşim yerleri arasında p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark bulunamamıştır (p=0,892).

Tablo 4.8 : Hasta grubunda EBV Varlığına Göre p73 Yoğunluğu.

		EBV			
		Negatif		Pozitif	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	37	35,9	2	25,0
	Zayıf	25	24,3	3	37,5
	Orta	17	16,5	1	12,5
	Kuvvetli	24	23,3	2	25,0

Pearson Ki-kare=2,283, p=0,892, n=sayı, %=sütun yüzdesi

Tablo 4.9’da hasta grubunda lenfatik invazyon varlığına göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir. Lenfatik invazyon olmayan grupta p73 %37,0 sıklıkta negatif, %18,5 sıklıkta zayıf, %14,8 sıklıkta orta ve %29,6 sıklıkta kuvvetli pozitifdir.

Lenfatik invazyon olan grupta ise p73 %34,5 sıklıkta negatif, %27,4 sıklıkta zayıf, %16,7 sıklıkta orta ve %21,4 sıklıkta kuvvetli pozitifdir.

Lenfatik invazyon varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark bulunamamıştır(p=0,728).

Tablo 4.9 : Hasta grubunda lenfatik invazyon varlığına göre p73 yoğunluğu.

		Lenfatik invazyon			
		Yok		Var	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	10	37,0	29	34,5
	Zayıf	5	18,5	23	27,4
	Orta	4	14,8	14	16,7
	Kuvvetli	8	29,6	18	21,4

Pearson Ki-kare=1,303, p=0,728, n=sayı, %=sütun yüzdesi

Tablo 4.10’da hasta grubunda kan damarı invazyonu varlığına göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir. Kan damarı invazyonu olmayan grupta p73 %33,3 sıklıkta negatif, %16,7 sıklıkta zayıf, %11,1 sıklıkta orta ve %38,9 sıklıkta kuvvetli pozitifdir.

Kan damarı invazyonu olan grupta ise p73 %39,1 sıklıkta negatif, %28,3 sıklıkta zayıf, %21,7 sıklıkta orta ve %10,9 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. Kan damarı invazyonu

varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark vardır ($p=0,023$). Kan damarı invazyonu olmayan grupta, invazyon olan gruba göre anlamlı şekilde p73 yoğunluğu daha kuvvetlidir.

Tablo 4.10 : Hasta grubunda kan damarı invazyonu varlığına göre p73 yoğunluğu.

		Kan damarı invazyonu			
		Yok		Var	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	12	33,3	18	39,1
	Zayıf	6	16,7	13	28,3
	Orta	4	11,1	10	21,7
	Kuvvetli	14	38,9	5	10,9

Pearson Ki-kare=9,536, $p=0,023$, n=sayı, %=sütun yüzdesi

Tablo 4.11’de hasta grubunda perinöral invazyon varlığına göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir. Perinöral invazyon olmayan grupta p73 %31,8 sıklıkta negatif, %22,7 sıklıkta zayıf, %13,6 sıklıkta orta ve %31,8 sıklıkta kuvvetli pozitiftir. Perinöral invazyon olan grupta ise p73 %39,3 sıklıkta negatif, %23,0 sıklıkta zayıf, %18,0 sıklıkta orta ve %19,7 sıklıkta kuvvetli pozitiftir. Perinöral invazyon varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktur ($p=0,689$).

Tablo 4.11 : Hasta grubunda perinöral invazyon varlığına göre p73 yoğunluğu.

		Perinöral invazyon			
		Yok		Var	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	7	31,8	24	39,3
	Zayıf	5	22,7	14	23,0
	Orta	3	13,6	11	18,0
	Kuvvetli	7	31,8	12	19,7

Pearson Ki-kare=1,473, $p=0,689$, n=sayı, %=sütun yüzdesi

Tablo 4.12’de hasta grubunda pleksus invazyonu varlığına göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir. Pleksus invazyonu olmayan grupta p73 %39,1 sıklıkta negatif, %19,6 sıklıkta zayıf, %10,9 sıklıkta orta ve %30,4 sıklıkta kuvvetli pozitiftir. Pleksus invazyonu olan grupta ise p73 %33,3 sıklıkta negatif, %25,9 sıklıkta zayıf, %29,6 sıklıkta orta ve %11,1 sıklıkta kuvvetli pozitiftir. Pleksus invazyonu varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktur ($p=0,087$).

Tablo 4.12 : Hasta grubunda pleksus invazyonu varlığına göre p73 yoğunluğu.

		Pleksus invazyonu			
		Yok		Var	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	18	39,1	9	33,3
	Zayıf	9	19,6	7	25,9
	Orta	5	10,9	8	29,6
	Kuvvetli	14	30,4	3	11,1

Pearson Ki-kare=6,559, p=0,087, n=sayı, %=sütun yüzdesi.

Tablo 4.13'te hasta grubunda lenf nodu tutulumu varlığına göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir. Lenf nodu tutulumu olmayan grupta p73 %46,7 sıklıkta negatif, %26,7 sıklıkta zayıf, %0,0 sıklıkta orta ve %26,7 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. Lenf nodu tutulumu olan grupta ise p73 %35,3 sıklıkta negatif, %22,1 sıklıkta zayıf, %20,6 sıklıkta orta ve %22,1 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. Lenf nodu tutulumu varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktur (p=0, 291).

Tablo 4.13 : Hasta grubunda lenf nodu tutulumu varlığına göre p73 yoğunluğu.

		Lenf nodu tutulumu			
		Yok		Var	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	7	46,7	24	35,3
	Zayıf	4	26,7	15	22,1
	Orta	0	0,0	14	20,6
	Kuvvetli	4	26,7	15	22,1

Pearson Ki-kare=3,742, p=0,291, n=sayı, %=sütun yüzdesi.

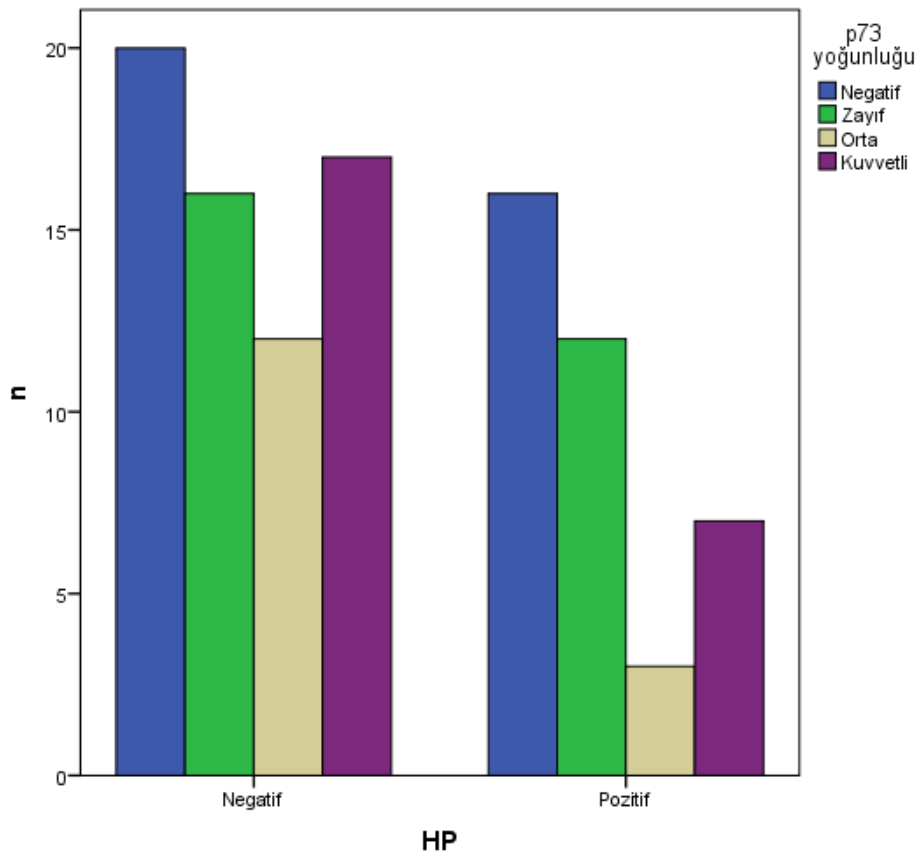
Tablo 4.14'te hasta grubunda *H. pylori* varlığına göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir. *H. pylori* negatif grupta p73 %30,8 sıklıkta negatif, %24,6 sıklıkta zayıf, %18,5 sıklıkta orta ve %26,2 sıklıkta kuvvetli pozitifdir.

H. pylori pozitif grupta ise p73 %42,1 sıklıkta negatif, %31,6 sıklıkta zayıf, %7,9 sıklıkta orta ve %18,4 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. *H. pylori* varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktur (p=0, 288). Şekil 4.5'te hasta grubunda *H. pylori* varlığına göre p73 dağılımlarına ait çubuk grafiği yer almaktadır.

Tablo 4.14 : Hasta grubunda *H.pylori* varlığına göre p73 yoğunluğu.

		Helicobater Pylori			
		Negatif		Pozitif	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	20	30,8	16	42,1
	Zayıf	16	24,6	12	31,6
	Orta	12	18,5	3	7,9
	Kuvvetli	17	26,2	7	18,4

Pearson Ki-kare=3,763, p=0,288, n=sayı, %=sütun yüzdesi.



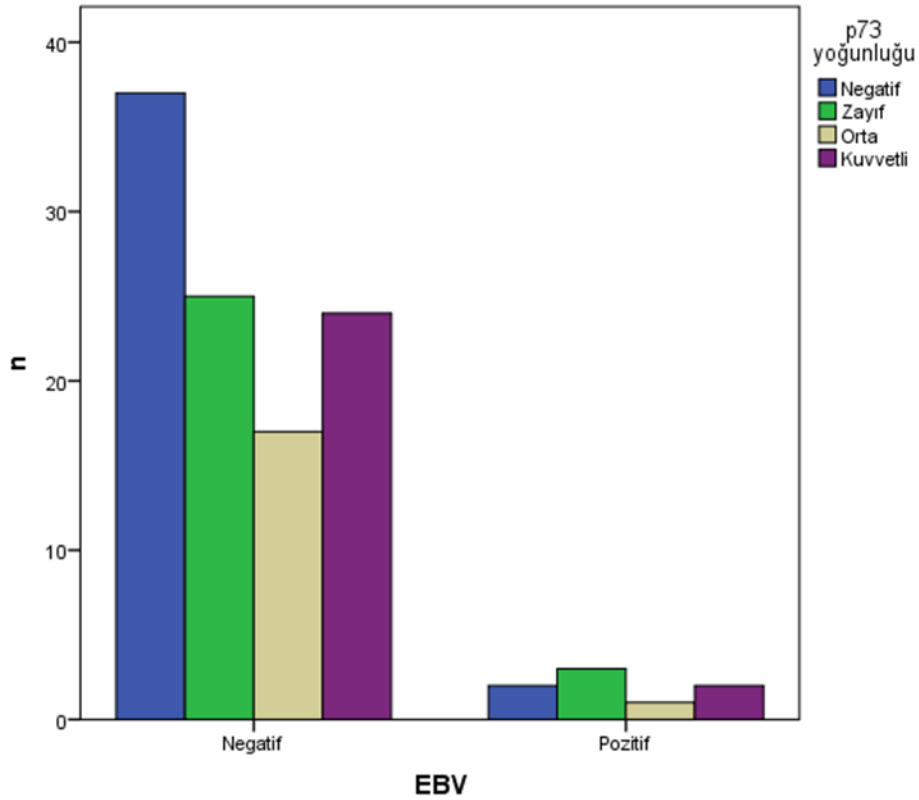
Şekil 4.5 : Hasta grubunda *H. pylori* varlığına göre p73 dağılımları.

Tablo 4.15'te hasta grubunda EBV varlığına göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir. EBV negatif grupta p73 %35,9 sıklıkta negatif, %24,3 sıklıkta zayıf, %16,5 sıklıkta orta ve %23,3 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. EBV pozitif grupta ise p73 %25,0 sıklıkta negatif, %37,5 sıklıkta zayıf, %12,5 sıklıkta orta ve %25,0 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. EBV varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktur (p=0, 838). Şekil 4.6'da hasta grubunda EBV varlığına göre p73 dağılımlarına ait çubuk grafiği yer almaktadır.

Tablo 4.15 : Hasta grubunda EBV varlığına göre p73 yoğunluğu.

		EBV			
		Negatif		Pozitif	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	37	35,9	2	25,0
	Zayıf	25	24,3	3	37,5
	Orta	17	16,5	1	12,5
	Kuvvetli	24	23,3	2	25,0

Pearson Ki-kare=0,850, p=0,838, n=sayı, %=sütun yüzdesi.



Şekil 4.6 : Hasta grubunda EBV varlığına göre p73 dağılımları.

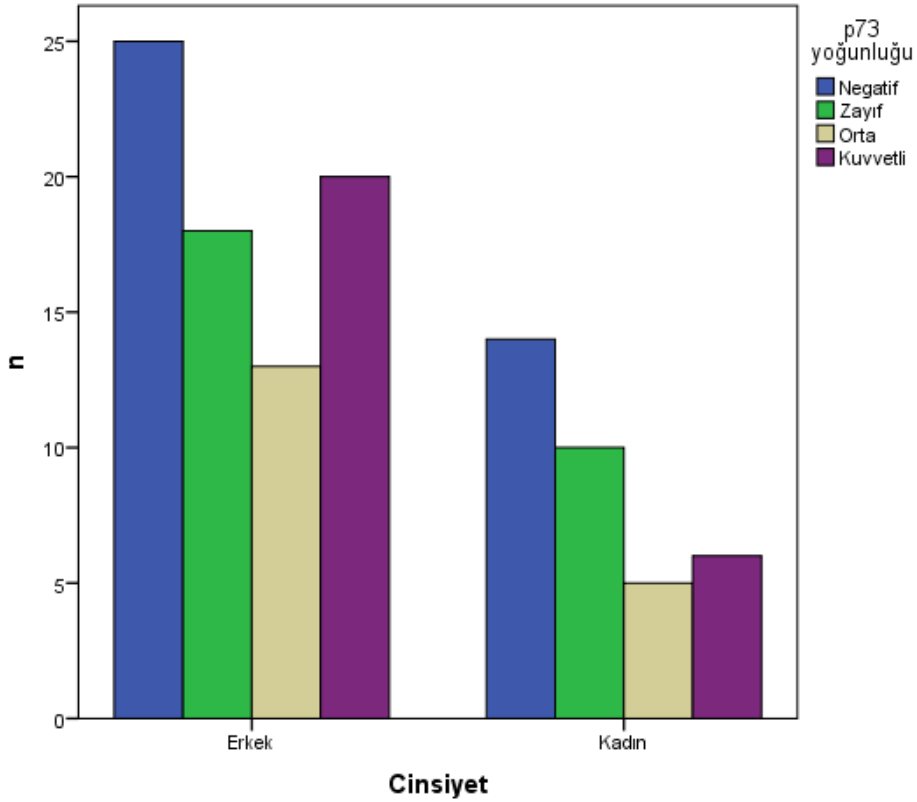
Tablo 4.16’da hasta grubunda cinsiyet grupları arasında p73 yoğunluğu karşılaştırılmıştır. Erkeklerde p73 %32,9 sıklıkta negatif, %23,7 sıklıkta zayıf, %17,1 sıklıkta orta ve %26,3 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. Kadınlarda ise p73 %40,0 sıklıkta negatif, %28,6 sıklıkta zayıf, %14,3 sıklıkta orta ve %17,1 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. Cinsiyet grupları arasında p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktur (p=0,671).

Şekil 4.7’de hasta grubunda cinsiyet grupları arasında p73 dağılımlarına ait çubuk grafiği yer almaktadır.

Tablo 4.16 : Cinsiyet grupları arasında p73 yoğunluğunun karşılaştırılması.

		Cinsiyet			
		Erkek		Kadın	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	25	32,9	14	40,0
	Zayıf	18	23,7	10	28,6
	Orta	13	17,1	5	14,3
	Kuvvetli	20	26,3	6	17,1

Pearson Ki-kare=1,550, p=0,671, n=sayı, %=sütun yüzdesi.



Şekil 4.7 : Hasta grubunda EBV varlığına göre p73 dağılımları.

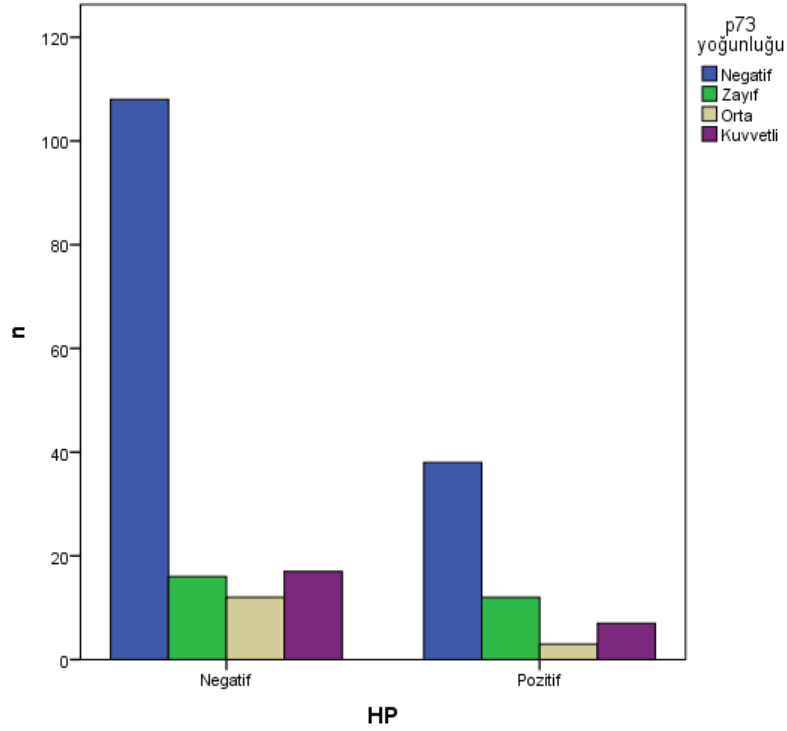
Tablo 17’de çalışma gruplarında H. pylori varlığına göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir. H. pylori negatif grupta p73 %70,6 sıklıkta negatif, %10,5 sıklıkta zayıf, %7,8 sıklıkta orta ve %11,1 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. H. pylori pozitif grupta ise p73 %63,3 sıklıkta negatif, %20,0 sıklıkta zayıf, %5,0 sıklıkta orta ve %11,7 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. H. pylori varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark

yoktur (p=0, 281). Şekil 4.8’de tüm katılımcılarda *H. pylori* varlığına göre p73 dağılımlarına ait çubuk grafiği yer almaktadır.

Tablo 4.17 : Tüm katılımcılarda *H.pylori* varlığına göre p73 yoğunluğu.

		Helicobacter Pylori			
		Negatif		Pozitif	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	108	70,6	38	63,3
	Zayıf	16	10,5	12	20,0
	Orta	12	7,8	3	5,0
	Kuvvetli	17	11,1	7	11,7

Pearson Ki-kare=3,823, p=0,281, n=sayı, %=sütun yüzdesi.



Şekil 4.8 : Tüm katılımcılarda *H. pylori* varlığına göre p73 dağılımı.

Tablo 4.18’de çalışma gruplarında EBV varlığına göre p73 yoğunluğu dağılımları verilmiştir.

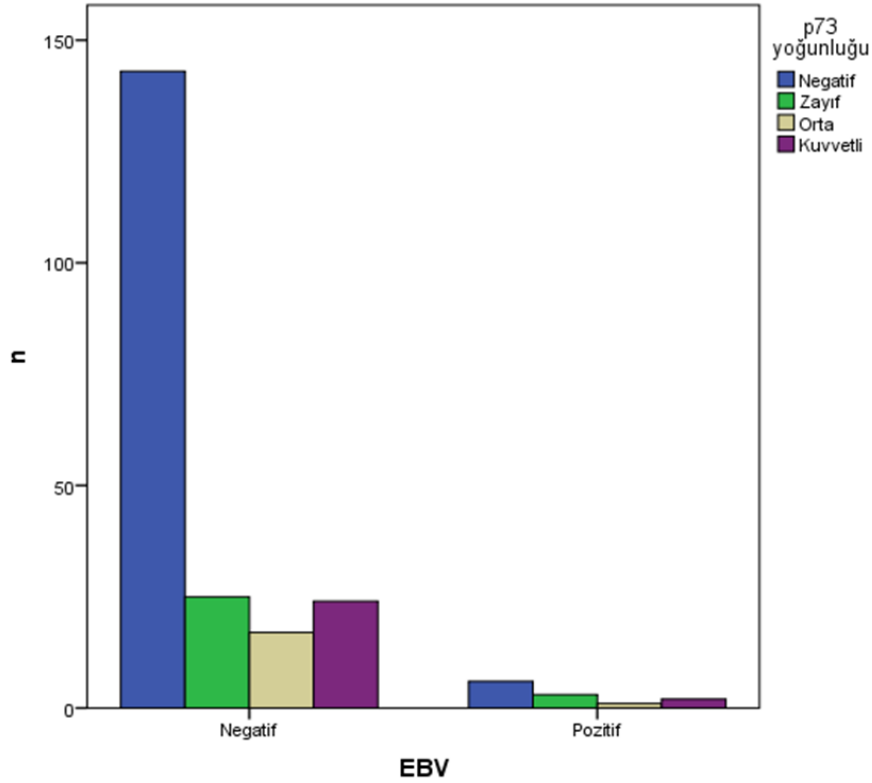
EBV negatif grupta p73 %68,4 sıklıkta negatif, %12,0 sıklıkta zayıf, %8,1 sıklıkta orta ve %11,5 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. EBV pozitif grupta ise p73 %50,0 sıklıkta negatif, %25,0 sıklıkta zayıf, %8,3 sıklıkta orta ve %16,7 sıklıkta kuvvetli pozitifdir. EBV varlığına göre p73 yoğunluğu açısından anlamlı fark yoktur (p=0,502). Şekil 4.9’da

tüm katılımcılarda EBV varlığına göre p73 dağılımlarına ait çubuk grafiği yer almaktadır.

Tablo 4.18 : Tüm katılımcılarda EBV varlığına göre p73 yoğunluğu.

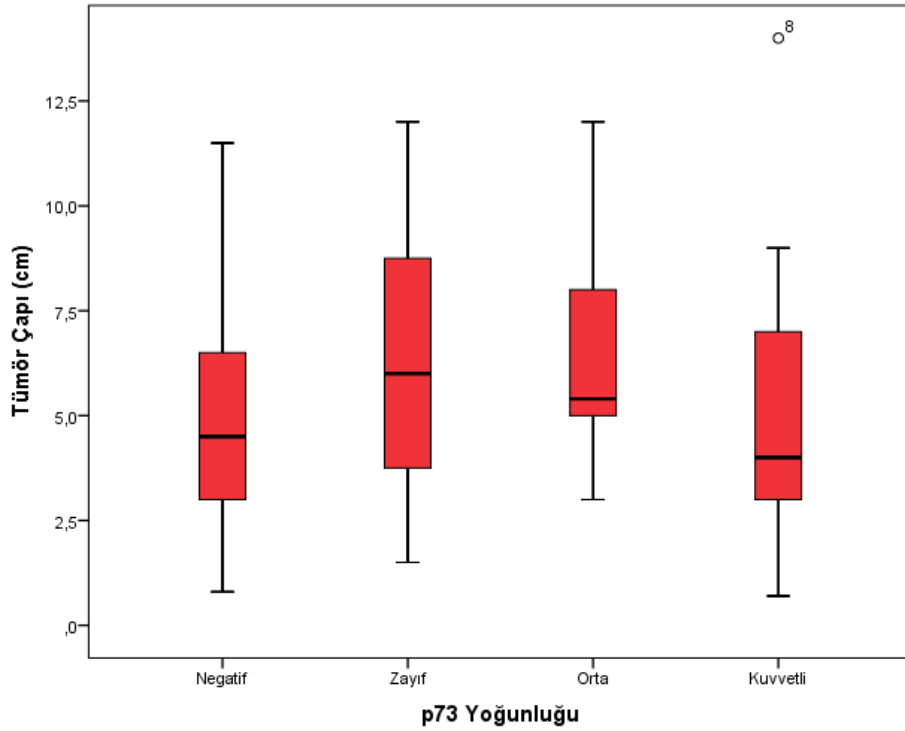
		EBV			
		Negatif		Pozitif	
		n	%	n	%
p73 yoğunluğu	Negatif	143	68,4	6	50,0
	Zayıf	25	12,0	3	25,0
	Orta	17	8,1	1	8,3
	Kuvvetli	24	11,5	2	16,7

Pearson Ki-kare=2,354, p=0,502, n=sayı, %=sütun yüzdesi.



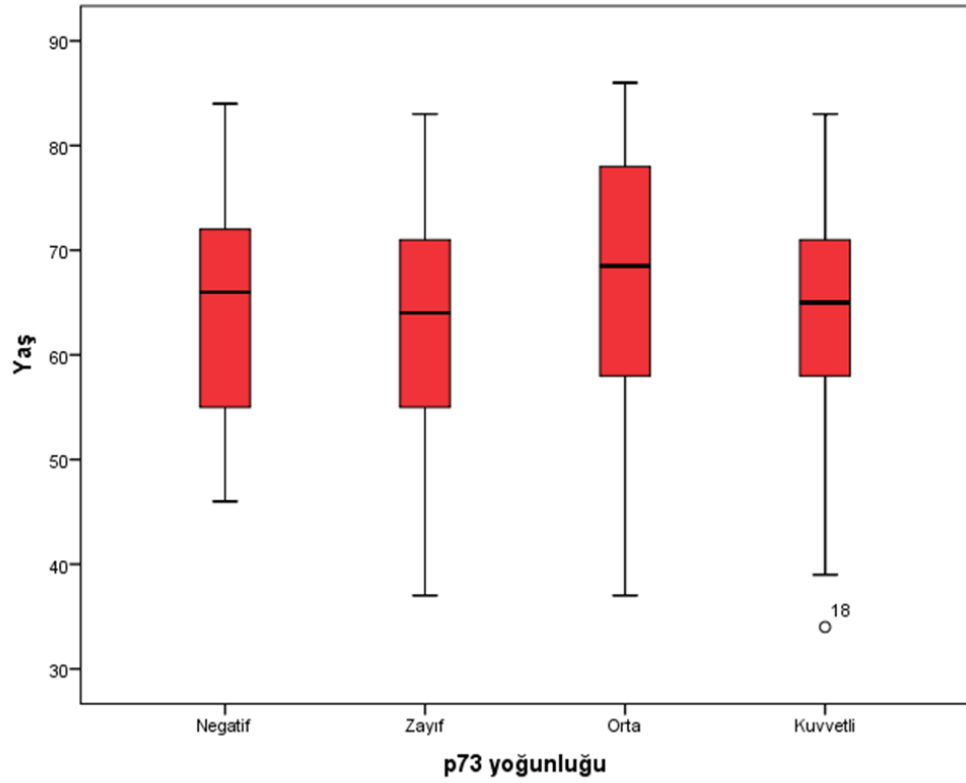
Şekil 4.9 : Tüm katılımcılarda EBV varlığına göre p73 dağılımı.

Hasta grubunda p73 yoğunlukları arasında tümör çapları karşılaştırıldığında, ortalama tümör çapları; p73 negatif olan grupta $4,87 \pm 2,4$ cm (ortanca=4,50 cm), p73 zayıf yoğunlukta olan grupta $6,24 \pm 2,95$ cm (ortanca=6,00 cm), p73 orta yoğunlukta olan grupta $6,66 \pm 2,90$ cm (ortanca=5,40 cm), p73 kuvvetli yoğunlukta olan grupta $4,95 \pm 3,10$ cm (ortanca=4,00 cm)'dir. p73 grupları arasında tümör çapı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur (p=0,052). Şekil 4.10'da hasta grubunda p73 gruplarında tümör çaplarına ait kutu-çizgi grafiği yer almaktadır.



Şekil 4.10 : Hasta grubunda p73 gruplarında tümör çaplarına ait kutu-çizgi grafiği.

Hasta grubunda p73 yoğunlukları arasında yaş dağılımları karşılaştırıldığında, ortalama yaş; p73 negatif olan grupta $64,26 \pm 10,33$ (ortanca=66), p73 zayıf yoğunlukta olan grupta $62,93 \pm 10,82$ (ortanca=64), p73 orta yoğunlukta olan grupta $66,61 \pm 14,58$ (ortanca=68), p73 kuvvetli yoğunlukta olan grupta $63,58 \pm 11,05$ 'tir (ortanca=65). p73 grupları arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p=0,746$). Şekil 4.11'de hasta grubunda p73 gruplarında yaş dağılımlarına ait kutu-çizgi grafiği yer almaktadır.



Şekil 4.11 : Hasta grubunda p73 gruplarında yaş dağılımlarına ait kutu-çizgi grafiği.

Hastalarda cinsiyet grupları arasında yaş ve tümör çaplarının karşılaştırıldığında, erkeklerde ortalama yaş $65,33 \pm 11,05$ iken (ortanca=66), kadınlarda $61,57 \pm 11,55$ 'dir (ortanca=64). Erkeklerde ortalama tümör çapı $5,82 \pm 2,99$ cm iken (ortanca=5,5 cm), kadınlarda $4,89 \pm 2,50$ cm'dir (ortanca=4,5 cm). Cinsiyetler arasında yaş ($p=0,104$) ve tümör çapı ($p=0,146$) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamamıştır.

5. TARTIŞMA

Mide kanseri yeni gelişmelere rağmen kanserle ilişkili ölümlerin en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Beş yıllık sağ kalım oranı %20 civarındadır [1]. Mide kanserlerinin etiyojisi karmaşıktır. *H.pylori* enfeksiyonu, gastrik adenom ve parsiyel gastrektomi gibi faktörlerin yanı sıra e-kadherin mutasyonu gibi genetik faktörlerin kombinasyonu gastrik karsinogenezde rol oynar [79,80]. Mide kanserleri ölümlerinde düşüş olduğu gözlenmektedir. Bunun nedenleri arasında cerrahi deneyim, kemoterapik ajanlardaki gelişmeler ve *H.pylori* ile mücadele rol oynamaktadır [93]. Mide kanserlerinin en önemli belirteçlerinden biri ise, tüm kromozlarda veya kromozom parçalarındaki kayıp ya da artışların olduğu düzensizliklerdir [80,92]. Yapılan çalışmalarda mide kanserlerinde tümör yerleşim yeri distal bölge olarak bildirilmiştir [5-9]. Çalışmamızda olgularımızda tümör yerleşim yerinin %54,1 ile distalde olduğu belirlenmiştir. Evrelemenin de % 65,8 ile Evre III olduğu gözlenmiştir.

Güncel çalışmaları bazılarında *H.pylori* saptanan olguların yaklaşık %1’inde kanser görüldüğü belirtilirken, bazılarında yüksek oranda kansere neden olduğu gösterilmiştir [1,130]. *H.pylori* CagA virulans faktörü yoluyla growth faktör resöptörlerini aktive ederek, apoptozu inhibe eder, proliferasyonu, anjiogenezisi ve invazyonu artırır [75,87]. *H.pylori* enfeksiyonu sırası ile kronik gastrite, atrofik gastrite, intestinal metaplaziye, displaziye ilerler ve bunun sonucunda da gastrik karsinom geliştiği düşünülür [68,77]. *H.pylori* enfeksiyonu gastrik adenokarsinom riskini 6 kat artırmaktadır [77]. Akay ve arkadaşları tarafından 2009 yılında yapılan çalışmada *H.pylori* enfeksiyonu ile genomik dengesizlikler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır [126]. Lee ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı bir çalışmada *H.pylori* için antibiyotik tedavisinin mide kanseri ve mortalite insidansını önemli ölçüde azalttığını göstermiştir [127]. Wu ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları retrospektif çalışmada steroid olmayan antiinflamatuvarların (NSAID’ler) *H.pylori* enfeksiyonu öyküsü olan kişilerde gastrik kanser riskini azalttığını göstermiştir [128]. Randomize kontrollü bir çalışmanın meta analizi, gastrik kanser insidansını %44 azaltmak için *H.pylori* ‘nin ortadan kaldırıldığını saptamıştır [129].

Yapılan çalışmada *H.pylori* pozitifliğini, gastrektomi piyeslerinden *H.pylori* daha düşük saptadığımız için aynı hastaların endoskopik biyopsilerinin Giemsa boyalı lamları da tarandı. 26'sı erkek, 12'si kadın olmak üzere 38 olguda (%36,9) *H.pylori* pozitifliği saptanmıştır. 28 pozitif olgu distal yerleşimliken, 10 olgu proksimal yerleşimlidir. 38 *H.pylori* pozitif olgunun 31'inde, lenfatik invazyon pozitifliği, 18'inde kan damarı invazyonu saptanmıştır. Fakat bu veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kontrol grubu ile hasta grubu *H.pylori* pozitifliği açısından karşılaştırıldığında, hasta grubundaki pozitiflik yüzdesi (%36,9), kontrol grubuna göre (%20,0) anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur (p=0,006).

EBV dünyada yaygın olarak görülen enfeksiyonlardan ve bazı malign hastalıkların etyolojisinde rol alabilen bir virüstür. Genellikle asemptomatik geçirilen primer enfeksiyon sonrasında virüs hayat boyu latent olarak kalabilmekte ve tekrar aktivasyonu sonucu farklı şekillerde hastalıklar oluşturabilmektedir [109,123]. Yapılan çalışmalarda EBV'nin %5-10 arasında mide kanseri ile ilişkili olduğu saptanmıştır [16,18]. EBV'ye bağlı mide kanseri, erkeklerde midede kardiyada veya postop dokuda, lenfostik infiltrasyon, daha iyi prognoz, düşük lenf nodu metastazı gibi özelliklere sahiptir [94,113,117]. EBV ile ilgili EBER1, EBNA1, LMP2A, BARF0 VE BARF1 gibi birkaç gen mide kanserinde ekspresyone edilmektedir. Buna rağmen yapılan çalışmalarda EBV'nin rolü net olarak belli değildir [118]. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki EBV ilişkili gastrik kanserlerin erkeklerde görülme sıklığı kadınlardan fazladır [94]. EBV'nin kodlanmış RNA ekspresyonu, kolon ve özofagus dahil diğer sindirim sistemi organlarında tespit edilemez [106]. Bu bulgular, mideye özgü epitelyal değişiklikler ve/veya durumların önemini göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada EBV pozitif olgularımız %7,2 oranında olmuştur. Yapılan çalışmalarda erkeklerde kadınlara oranla daha fazla çıkan EBV pozitifliği bizde de benzer bir şekilde (6 erkek hasta, 2 kadın hasta) çıkmıştır. Fakat gastrik kanserlerin erkek hastada görülme sıklığı fazla olduğu için, anlamlı olabileceği net değildir.

Mide kanserinin değişik evrelerinde birçok onkogen tanımlanmıştır [3,132-134]. İntestinal tip mide kanserinin yaklaşık %50'sinde, p53, p73, adenomatöz koli (APC), DCC, kırılğan histidin triadı (FHIT), trefoil faktör ailesi (TFF) gibi genlerde tümör supresör genlerde değişiklikler saptanmıştır [3,132]. P73 bir tümör baskılayıcıya yapısal ve fonksiyonel homolojiye sahip bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır, p53 anormallığı gastrik kanserlerde yoğun olarak çalışılmıştır. Gastrik

kanserlerde EBV birlikteliği henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. [132-133]. EBV ilişkili gastrik kanserlerde p73 geninde değişiklikler gözlenmiştir [132-133]. P73 nöroendokrin tümörler başta olmak üzere ilişkisi belirtilmiş olup gastrik kanserli olgularda yeterince çalışma yapılmamıştır. Yapılan çalışmalarda p73 geni p53'e göre insan kanserinde nadiren mutasyona uğrar[132-134]. Başka bir çalışmada ise *H.pylori* kaynaklı apoptozda yer aldığı saptanmıştır. Bu çalışmada *H.pylori* kaynaklı apoptozun p73-p63 etkileşimi ile düzenlendiği gösterilerek p73'ün *H.pylori* enfeksiyonu ile ilişkili patogeneizde önemli bir rol oynayabileceği gösterilmiştir.

Sonuç olarak; bu çalışmada, bir aday tümör supresör gen olan p73'ün ekspresyonunu araştırdık. p73 pek çok insan tümörlerinde sıklıkla susturulan bir bölge olan kromozomu 1p36.23 ile eşleştirilmiştir. p73 geninin ekspresyonunu EBV ilişkili gastrik karsinomlarda ve EBV ilişkili kanser olmayan vakalarda, *H.pylori* ilişkili gastrik kanserlerde ve *H.pylori* ilişkili kanser olmayan vakalarda değerlendirildi. Yine p73'ün tümörün evrelerine, yerleşim yerlerine, lenfatik invazyon varlığına, kan damarı invazyon varlığına, perinöral invazyon varlığına, pleksus invazyon varlığına ve lenf nodu tutulumuna göre değerlendirildi. Hasta grubu (%35 negatif, %25,2 zayıf, %16,2 orta ve %23,4 kuvvetli) ile kontrol grubu (%100 negatif) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). *H.pylori* pozitif vakalarda p73 22 olguda zayıf, orta, kuvvetli olarak eksprese olmuşken, yoğunluğu açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. EBV pozitif 6 olguda zayıf, orta ve kuvvetli olarak eksprese olduğu izlenmiş fakat, p73 yoğunluğu açısından anlamlı bir fark izlenmemiştir. Kan damarı invazyonu varlığına göre anlamlı fark vardır. Diğer parametrelerde de p73 yoğunluğu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, EBV ve *H.pylori* varlığının gastrik kanserlerde p73 salınımını arttırdığını yeterli düzeyde ortaya koyamamıştır. Olgu sayısının arttırılması ve diğer aday tümör süpressör genlerin de araştırılması bu alanda yapılabilecek ileri çalışmaları gerektirmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **World Health Organization WHO, International Agency for Research on Cancer.** Latest global cancer data. Press release. 2018 September 12.
- [2] **Zur Hausen, A., Van Rees, B. P., Van Beek, J., Craanen, M. E., Bloemena, E., Offerhaus, G. J. A., ... & van den Brule, A. J. C.** (2004). Epstein-Barr virus in gastric carcinomas and gastric stump carcinomas: a late event in gastric carcinogenesis. *Journal of clinical pathology*, 57(5), 487-491.
- [3] **Lee, J. H., Kim, S. H., Han, S. H., An, J. S., Lee, E. S., & Kim, Y. S.** (2009). Clinicopathological and molecular characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: A meta-analysis. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 24(3), 354-365.
- [4] **Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M. & Bray, F.** (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*, 136(5), E359-E386.
- [5] **Loffield, R. J. L. F., Willems, I., Flendrig, J. A., & Arends, J. W.** (1990). Helicobacter pylori and gastric carcinoma. *Histopathology*, 17(6), 537-541.
- [6] **Wroblewski, L. E., Peek, R. M., & Wilson, K. T.** (2010). Helicobacter pylori and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clinical microbiology reviews*, 23(4), 713-739.
- [7] **Simko, V., Anand, N., & Ginter, E.** (2015). Gastric intestinal metaplasia—age, ethnicity and surveillance for gastric cancer. *Bratislava Medical Journal*, 116(1), 3-8.
- [8] **Camargo, M. C., Goto, Y., Zabaleta, J., Morgan, D. R., Correa, P., & Rabkin, C. S.** (2012). Sex hormones, hormonal interventions, and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 21(1), 20-38.
- [9] **Sipponen, P., Kekki, M., & Siurala, M.** (1988). Increased risk of gastric cancer in males affects the intestinal type of cancer and is independent of age, location of the tumour and atrophic gastritis. *British journal of cancer*, 57(3), 332.
- [10] **Yaghoobi, M., Bijarchi, R., & Narod, S. A.** (2010). Family history and the risk of gastric cancer. *British journal of cancer*, 102(2), 237.
- [11] **Chan, A. O. O., Wong, B. C. Y., & Lam, S. K.** (2001). Gastric cancer: past, present and future. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15(7), 469-474. UpToDate 17 April 2014

- [12] Vauhkonen, M., Vauhkonen, H., & Sipponen, P. (2006). Pathology and molecular biology of gastric cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 20(4), 651-674.
- [13] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (1994). *Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori* (Vol. 61). International Agency for Research on Cancer.
- [14] Odenbreit, S., Swoboda, K., Barwig, I., Ruhl, S., Borén, T., Koletzko, S., & Haas, R. (2009). Outer membrane protein expression profile in *Helicobacter pylori* clinical isolates. *Infection and immunity*, 77(9), 3782-3790.
- [15] Thoreson, A. C. E., Hamlet, A., Çelik, J., Byström, M., Nyström, S., Olbe, L., & Svennerholm, A. M. (2000). Differences in surface-exposed antigen expression between *Helicobacter pylori* strains isolated from duodenal ulcer patients and from asymptomatic subjects. *Journal of clinical microbiology*, 38(9), 3436-3441.
- [16] Shinozaki, A., Ushiku, T., Morikawa, T., Hino, R., Sakatani, T., Uozaki, H., & Fukayama, M. (2009). Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a distinct carcinoma of gastric phenotype by claudin expression profiling. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 57(8), 775-785.
- [17] Liu, Y., Yang, W., Pan, Y., Ji, J., Lu, Z., & Ke, Y. (2016). Genome-wide analysis of Epstein-Barr virus (EBV) isolated from EBV-associated gastric carcinoma (EBVaGC). *Oncotarget*, 7(4), 4903.
- [18] Iizasa, H., Nanbo, A., Nishikawa, J., Jinushi, M., & Yoshiyama, H. (2012). Epstein-Barr Virus (EBV)-associated gastric carcinoma. *Viruses*, 4(12), 3420-3439.
- [19] Kaghad, M., Bonnet, H., Yang, A., Creancier, L., Biscan, J. C., Valent, A., ... & Ferrara, P. (1997). Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers. *cell*, 90(4), 809-819.
- [20] Zhu, J., Jiang, J., Zhou, W., & Chen, X. (1998). The potential tumor suppressor p73 differentially regulates cellular p53 target genes. *Cancer research*, 58(22), 5061-5065.
- [21] Melino, G., De Laurenzi, V., & Vousden, K. H. (2002). p73: Friend or foe in tumorigenesis. *Nature Reviews Cancer*, 2(8), 605.
- [22] Url-3 < <https://www.cancer.org/American Cancer Society>
- [23] Goldman, L., & Ausiello, D. A. (Eds.). (2008). *Cecil medicine*. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- [24] Url-3 < <https://www.nfcr.org/> National Foundation for Cancer Research
- [25] Url-3 < <https://www.cancer.gov/> National Cancer Institute
- [26] Fitzmaurice, C., Dicker, D., Pain, A., Hamavid, H., Moradi-Lakeh, M., MacIntyre, M. F., ... & Hamadeh, R. R. (2015). The global burden of cancer 2013. *JAMA oncology*, 1(4), 505-527.

- [27] Pavlopoulou, A., Spandidos, D. A., & Michalopoulos, I. (2015). Human cancer databases. *Oncology reports*, 33(1), 3-18.
- [28] Sadler, T. W. (2011). *Langman's medical embryology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- [29] Esrefoglu M. Embriyoloji Kitabı. (2016). İstanbul kitabevi.
- [30] Moore, K. L., & Persaud, T. V. N. (2009). *The Developing Human Clinically Oriented Embryology*. Elsevier Health Sciences. pp. 213-16
- [31] Dogusoy, G. B. (2015) Gastrointestinal patoloji. O'Tıp kitabevi. Cilt:1.
- [32] Fenoglio-Preiser, C. M., Noffsinger, A. E., Stemmermann, G. N., & Lantz, P. E. (2008). *Gastrointestinal pathology: an atlas and text*. CCH.
- [33] Cotran, R. S., Kumar, V., & Robbins, S. L. (1994). *Robbins pathologic basis of disease* (No. RB 111. R623 1994).
- [34] Drake, L. R., Vogl, W., & Mitchell, A. W. M. (2007). Auris Media, Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Gray's Anatomi (Yıldırım M, ed). *İkinci baskı*. Ankara, Güneş Tıp Kitabevi, 272-273.
- [35] Junqueira, L. C. U., Carneiro, J., Aytekin, Y., & Solakoğlu, S. (2009). *Temel histoloji: text & atlas*. Nobel Tıp Kitabevleri. pp. 288-298.
- [36] Skandalakis, J. E., Gray, S. W., & Rowe, J. S. (2000). *Anatomical complications in general surgery*.
- [37] Owen, D. A. (1997). Histology for Pathologist, Second Edition, edited by S. S. Sternberg, 481-493.
- [38] Fenoglio-Preiser, C. M., Noffsinger, A. E., Stemmermann, G. N., & Lantz, P. E. (2008). *Gastrointestinal pathology: an atlas and text*. CCH. 135-269.
- [39] Junqueira, L. C., Carneiro, J., & Kelley, R. O. (1993). Basic Histology, Çeviri (Translation) Ed: Aytekin Y: Temel Histoloji. 7. Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul, 346-356.
- [40] Ross, M. H., Romrell, L. J., & Kaye, G. I. (1995). Histology A Text and Atlas. Williams and Wilkins. *A Waverly Company. USA*, 424-430.
- [41] Cormack, D. H. (1998). *Clinically integrated histology*. Lippincott-Raven. 192-196.
- [42] Skandalakis, J. E., Skandalakis, P. N., & Skandalakis, L. J. (2000). Surgical anatomy and technique.
- [43] Dalley, I. I., Arthur, F., Agur, A. M., & Moore, K. L. (2015). *Essential clinical anatomy*.
- [44] Kajitani, T. (1981). The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. *Surgery Today*, 11(2), 127-139.
- [45] Landis, S. H., Murray, T., Bolden, S., & Wingo, P. A. (1999). Cancer statistics, 1999. *CA: A cancer Journal for Clinicians*, 49(1), 78-80
- [46] Cancer Research Campaing. Cancer Stats mortality – UK. London 1999.
- [47] Bosman, F. T., Carneiro, F., Hruban, R. H., & Theise, N. D. (2010). *WHO classification of tumours of the digestive system*(No. Ed. 4). World Health Organization.

- [48] T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı. (2012).
- [49] Rosai, J. (2011). Rosai and Ackerman's surgical pathology e-book. Elsevier Health Sciences.
- [50] Sayek, İ. (2012). Temel Cerrahi, Mide Tümörleri. Ankara, Güneş kitabevi. c: 1, s:1284.
- [51] Gold, R. P., Green, P. H., O'Toole, K. M., & Seaman, W. B. (1984). Early gastric cancer: radiographic experience. *Radiology*.
- [52] Sandhu, I. S., & Bhutani, M. S. (2002). Gastrointestinal endoscopic ultrasonography. *Medical Clinics*, 86(6), 1289-1317.
- [53] Shim, C. N., Song, M. K., Kang, D. R., Chung, H. S., Park, J. C., Lee, H., ... & Lee, Y. C. (2014). Size discrepancy between endoscopic size and pathologic size is not negligible in endoscopic resection for early gastric cancer. *Surgical endoscopy*.
- [54] Dikken, J. L., Baser, R. E., Gonen, M., Kattan, M. W., Shah, M. A., Verheij, M., ... & Coit, D. G. (2013). Conditional probability of survival nomogram for 1-, 2-, and 3-year survivors after an R0 resection for gastric cancer. *Annals of surgical oncology*, 20(5), 1623.
- [55] Macdonald, J. S., Smalley, S. R., Benedetti, J., Hundahl, S. A., Estes, N. C., Stemmermann, G. N., ... & Martenson, J. A. (2001). Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *New England Journal of Medicine*, 345(10), 725-730.
- [56] Marshall, B., & Warren, J. R. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The Lancet*, 323(8390), 1311-1315.
- [57] Janulaitytė-Gunther, D., Gunther, T., Pavidonis, A., & Kupčinskas, L. (2003). What Bizzozero never could imagine—*Helicobacter pylori* today and tomorrow. *Medicina*, 39(6), 542-549.
- [58] Warren, J. R., & Marshall, B. (1983). Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The lancet*, 321(8336), 1273-1275.
- [59] Cover, T. L., & Blaser, M. J. (2009). *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology*, 136(6), 1863-1873.
- [60] FERNANDES, Y. C. F., BONATTO, G. D. R., & BONATTO, M. W. (2016). Recurrence rate of *Helicobacter pylori* in patients with peptic ulcer five years or more after successful eradication. *Arquivos de gastroenterologia*, 53(3), 152-155.
- [61] Sepulveda, A. R. (2013). *Helicobacter*, inflammation, and gastric cancer. *Current pathobiology reports*, 1(1), 9-18.
- [62] Brown, L. M. (2000). *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiologic reviews*, 22(2), 283-297.
- [63] Eslick, G. D. (2000). *Helicobacter pylori* infection transmitted sexually via oral-genital contact: a hypothetical model. *Sexually transmitted infections*, 76(6), 489-492.

- [64] Strelkauskas, A., & Strelkauskas, J. (2010). *Microbiology: a clinical approach*. Garland Science.
- [65] Posselt, G., Backert, S., & Wessler, S. (2013). The functional interplay of *Helicobacter pylori* factors with gastric epithelial cells induces a multi-step process in pathogenesis. *Cell Communication and Signaling*, 11(1), 77.
- [66] Terradot, L., & Waksman, G. (2011). Architecture of the *Helicobacter pylori* Cag-type IV secretion system. *The FEBS journal*, 278(8), 1213-1222.
- [67] Backert, S., Fronzes, R., & Waksman, G. (2008). VirB2 and VirB5 proteins: specialized adhesins in bacterial type-IV secretion systems?. *Trends in microbiology*, 16(9), 409-413.
- [68] Fischer, W. (2011). Assembly and molecular mode of action of the *Helicobacter pylori* Cag type IV secretion apparatus. *The FEBS journal*, 278(8), 1203-1212.
- [69] Nishikawa, H., Hayashi, T., Arisaka, F., Senda, T., & Hatakeyama, M. (2016). Impact of structural polymorphism for the *Helicobacter pylori* CagA oncoprotein on binding to polarity-regulating kinase PAR1b. *Scientific reports*, 6, 30031.
- [70] Sinnott, C. G., Letley, D. P., Narayanan, G. L., Patel, S. R., Hussein, N. R., Zaitoun, A. M., ... & Atherton, J. C. (2016). *Helicobacter pylori* vacA transcription is genetically-determined and stratifies the level of human gastric inflammation and atrophy. *Journal of clinical pathology*, 69(11), 968-973.
- [71] Kennemann, L., Didelot, X., Aebischer, T., Kuhn, S., Drescher, B., Droege, M., ... & Falush, D. (2011). *Helicobacter pylori* genome evolution during human infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(12), 5033-5038.
- [72] Andersen, A. P., Elliott, D. A., Lawson, M., Barland, P., Hatcher, V. B., & Puzsken, E. G. (1997). Growth and morphological transformations of *Helicobacter pylori* in broth media. *Journal of clinical microbiology*, 35(11), 2918-2922.
- [73] Ho, B., & Vijayakumari, S. (1993). A simple and efficient continuous culture system for *Helicobacter pylori*. *Microbios*, 76(306), 59-66.
- [74] Wen, S., Felley, C. P., Bouzourene, H., Reimers, M., Michetti, P., & Pan-Hammarström, Q. (2004). Inflammatory gene profiles in gastric mucosa during *Helicobacter pylori* infection in humans. *The Journal of Immunology*, 172(4), 2595-2606.
- [75] Nilsson, C., Sillén, A., Eriksson, L., Strand, M. L., Enroth, H., Normark, S., ... & Engstrand, L. (2003). Correlation between cag pathogenicity island composition and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease. *Infection and immunity*, 71(11), 6573-6581.
- [76] Ding, S. Z., & Zheng, P. Y. (2012). *Helicobacter pylori* infection induced gastric cancer; advance in gastric stem cell research and the remaining challenges. *Gut pathogens*, 4(1), 18.
- [77] Url-3 < <http://www.istanbulsaglik.gov.tr/>

- [78] Zabaleta, J. (2012). MicroRNA: a bridge from H. pylori infection to gastritis and gastric cancer development. *Frontiers in genetics*, 3, 294.
- [79] Thomas, J. E., Gibson, G. R., Darboe, M. K., Weaver, L. T., & Dale, A. (1992). Isolation of Helicobacter pylori from human faeces. *The Lancet*, 340(8829), 1194-1195.
- [80] Cover, T. L., & Blaser, M. J. (1992). Purification and characterization of the vacuolating toxin from Helicobacter pylori. *Journal of Biological Chemistry*, 267(15), 10570-10575.
- [81] Cave, D., & Vargas, M. (1989). Effect of a Campylobacter pylori protein on acid secretion by parietal cells. *The Lancet*, 334(8656), 187-189.
- [82] Rauws, E. A., & Tytgat, G. N. (1995). Helicobacter pylori in duodenal and gastric ulcer disease. *Baillière's clinical gastroenterology*, 9(3), 529-547.
- [83] Marshall, B. J., Barrett, L. J., Prakash, C., McCallum, R. W., & Guerrant, R. L. (1990). Urea protects Helicobacter (Campylobacter) pylori from the bactericidal effect of acid. *Gastroenterology*, 99(3), 697-702.
- [84] Pinto-Ribeiro, I., Ferreira, R., Batalha, S., Hlaing, T., Wong, S., Carneiro, F., & Figueiredo, C. (2016). Helicobacter pylori vacA genotypes in chronic gastritis and gastric carcinoma patients from Macau, China. *Toxins*, 8(5), 142.
- [85] Dabiri, H., Jafari, F., Baghaei, K., Shokrzadeh, L., Abdi, S., Pourhoseingholi, M. A., & Mohammadzadeh, A. (2017). Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, oipA, iceA, babA2 and babB genotypes in Iranian dyspeptic patients. *Microbial pathogenesis*, 105, 226-230.
- [86] Zúñiga-Noriega, J. R., Bosques-Padilla, F. J., Pérez-Pérez, G. I., Tijerina-Menchaca, R., Flores-Gutiérrez, J. P., Garza, H. J. M., & Garza-González, E. (2006). Diagnostic utility of invasive tests and serology for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in different clinical presentations. *Archives of Medical research*, 37(1), 123-128.
- [87] Gisbert, J. P., & Pajares, J. M. (2001). Diagnosis of Helicobacter pylori infection by stool antigen determination: a systematic review. *The American journal of gastroenterology*, 96(10), 2829-2838.
- [88] Gramley, W. A., Asghar, A., Frierson, H. F., & Powell, S. M. (1999). Detection of Helicobacter pylori DNA in fecal samples from infected individuals. *Journal of clinical microbiology*, 37(7), 2236-2240.
- [89] Guslandi, M. (2000). Stool immunoassay for Helicobacter pylori is not specific enough. *Bmj*, 320(7248), 1541.
- [90] Huijsdens, X. W., Linskens, R. K., Koppes, J., Tang, Y. L., Meuwissen, S. G., Vandenbroucke-Grauls, C. M., & Savelkoul, P. H. (2004). Detection of Helicobacter species DNA by quantitative PCR in the gastrointestinal tract of healthy individuals and of patients with inflammatory bowel disease. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 41(1), 79-84.
- [91] Brunnicardi, F. C., Andersen, D. K., Billiar, T. R., Dunn, D. L., Hunter, J. G., & Pollock, R. E. (2016). Schwartz's Cerrahinin İlkeleri. *Özmen M. M., (Çeviri Editörü). Güneş Tıp kitabevleri.*

- [92] Iizasa, H., Nanbo, A., Nishikawa, J., Jinushi, M., & Yoshiyama, H. (2012). Epstein-Barr Virus (EBV)-associated gastric carcinoma. *Viruses*, 4(12), 3420-3439.
- [93] Us, D. Ergunay, K. (2012). Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji, 540.
- [94] Willke Topçu, A., Söyletir, G., & Doğanay, M. (2008). Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. *3üncü Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri*, 1677-1678.
- [95] Epstein, M. A. (1964). Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet*, 1, 702-703.
- [96] Epstein, M. A., Barr, Y. M., & Achong, B. G. (1964). A second virus-carrying tissue culture strain (Eb2) of lymphoblasts from burkitt's lymphoma. *Pathologie et biologie*, 12, 1233-1234.
- [97] Burkitt, D. (1958). A sarcoma involving the jaws in African children. *British Journal of Surgery*, 46(197), 218-223.
- [98] Burkitt, D. P.; Wright, D. H. (1970). Burkitt's Lymphoma; Churchill Livingstone: London, UK.
- [99] Willke Topçu, A., Söyletir, G., & Doğanay, M. (2008). Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. *3üncü Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri*, 1672
- [100] Evans, A. S., Niederman, J. C., & McCollum, R. W. (1968). Seroepidemiologic studies of infectious mononucleosis with EB virus. *New England Journal of Medicine*, 279(21), 1121-1127.
- [101] Pritchett, R. F., Hayward, S. D., & Kieff, E. D. (1975). DNA of Epstein-Barr virus. I. Comparative studies of the DNA of Epstein-Barr virus from HR-1 and B95-8 cells: size, structure, and relatedness. *Journal of virology*, 15(3), 556-559.
- [102] Bornkamm, G. W., Delius, H., Zimmer, U., Hudewentz, J., & Epstein, M. A. (1980). Comparison of Epstein-Barr virus strains of different origin by analysis of the viral DNAs. *Journal of virology*, 35(3), 603-618.
- [103] Dambaugh, T., Hennessy, K., Chamnankit, L., & Kieff, E. (1984). U2 region of Epstein-Barr virus DNA may encode Epstein-Barr nuclear antigen 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(23), 7632-7636.
- [104] Burkitt, D. (1962). Determining the climatic limitations of a children's cancer common in Africa. *British medical journal*, 2(5311), 1019-1023.
- [105] Küppers, R. (2003). B cells under influence: transformation of B cells by Epstein-Barr virus. *Nature Reviews Immunology*, 3(10), 801-802.
- [106] Rickinson, A. B., Kieff, E. D. Epstein-Barr virus. In: Knipe, D. M., Howley, P. M., editors. *Fields Virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. (2007).
- [107] Rickinson, A. B., Kieff, E. D. Epstein-Barr virus and its replication. In: Knipe, D. M., Howley, P. M., editors. *Fields Virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. (2007).
- [108] Url-3 <<https://www.nature.com/articles/nrc1452>

- [109] Grywalska, E., & Rolinski, J. (2015, April). Epstein-barr virus-associated lymphomas. In *Seminars in oncology* (Vol. 42, No. 2, pp. 291-303). WB Saunders.
- [110] Ohga, S., Nomura, A., Takada, H., & Hara, T. (2002). Immunological aspects of Epstein-Barr virus infection. *Critical reviews in oncology/hematology*, 44(3), 203-215.
- [111] Linde, A., & Falk, K. (2007). Epstein-Barr virus. *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. ASM Press, Washington, DC, 1564-1573.
- [112] De Paschale, M., & Clerici, P. (2012). Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: problems and solutions. *World journal of virology*, 1(1), 31-43.
- [113] Hess, R. D. (2004). Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. *Journal of clinical microbiology*, 42(8), 3381-3387.
- [114] Gulley, M. L. (2001). Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. *The Journal of molecular diagnostics*, 3(1), 1-10.
- [115] Grasser, F. A., Murray, P. G., Kremmer, E., Klein, K., Remberger, K., Feiden, W., ... & Mueller-Lantsch, N. (1994). Monoclonal antibodies directed against the Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen 1 (EBNA1): immunohistologic detection of EBNA1 in the malignant cells of Hodgkin's disease. *Blood*, 84(11), 3792-3798.
- [116] Tynell, E., Aurelius, E., Brandell, A., Julander, I., Wood, M., Yao, Q. Y., ... & Andersson, J. (1996). Acyclovir and prednisolone treatment of acute infectious mononucleosis: a multicenter, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Infectious Diseases*, 174(2), 324-331.
- [117] Cengiz, T., Mısırlıgil, A., & Aydın, M. (2004). Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji. *Ankara: Güneş Kitapevi*. 937-943.
- [118] Murray, P. R., Barron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A. Bastustaoglu, A. (Çeviri editörü). (2009). Klinik mikrobiyoloji. *Manual of clinical microbiology*. İç: Murray, P., Barron, E., Jorgensen, J. (eds). Epstein-Barr virus. 9. Baskı. Washington DC: ASM Press. Ankara: Atlas Kitapçılık. 1567-1570.
- [119] Henle, W., Henle, G. E., & Horwitz, C. A. (1974). Epstein-barr virus specific diagnostic tests in infectious mononucleosis. *Human pathology*, 5(5), 551-565.
- [120] Sears, J., Ujihara, M., Wong, S., Ott, C., Middeldorp, J., & Aiyar, A. (2004). The amino terminus of Epstein-Barr Virus (EBV) nuclear antigen 1 contains AT hooks that facilitate the replication and partitioning of latent EBV genomes by tethering them to cellular chromosomes. *Journal of virology*, 78(21), 11487-11505.
- [121] Mackey, D., & Sugden, B. (1999). [18] Applications of oriP plasmids and their mode of replication. In *Methods in enzymology* (Vol. 306, pp. 308-328). Academic Press.
- [122] Kaye, K. M., Izumi, K. M., & Kieff, E. (1993). Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 is essential for B-lymphocyte growth

transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(19), 9150-9154.

- [123] **Url-3** < <http://reagent-catalog.roche.com/documents/informEBER>
- [124] **Url-3** < <http://reagent-catalog.roche.com/documents/ultraViewDABbrochure.pdf>
- [125] **Url-3** < <https://www.thermofisher.com/antibody/product/p73-Antibody-Polyclonal/PA5-28931>
- [126] **Gümüs-Akay, G., Ünal, A. E., Elhan, A. H., Bayar, S., Karadayı, K., Sunguroglu, A., ... & Tükün, A.** (2009). DNA Copy Number Changes in Gastric Adenocarcinomas: High Resolution–Comparative Genomic Hybridization Study in Turkey. *Archives of medical research*, 40(7), 551-560.
- [127] **Lee, S. A., Kang, D., Shim, K., Choe, J., Hong, W., & Choi, H.** (2003). Original article effect of diet and *Helicobacter pylori* infection to the risk of early gastric cancer. *Journal of epidemiology*, 13(3), 162-168.
- [128] **Wu, C. Y., Wu, M. S., Kuo, K. N., Wang, C. B., Chen, Y. J., & Lin, J. T.** (2010). Effective reduction of gastric cancer risk with regular use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Journal of clinical oncology*, 28(18), 2952-2957.
- [129] **Ford, A. C., Forman, D., Hunt, R. H., Yuan, Y., & Moayyedi, P.** (2014). *Helicobacter pylori* eradication therapy to prevent gastric cancer in healthy asymptomatic infected individuals: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*, 348, g3174.
- [130] **Ding, S. Z., & Zheng, P. Y.** (2012). *Helicobacter pylori* infection induced gastric cancer; advance in gastric stem cell research and the remaining challenges. *Gut pathogens*, 4(1), 18.
- [132] **Jiang, H. B., Yang, T. J., Lu, P., & Ma, Y. J.** (2014). Gene expression profiling of gastric cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 18(15), 2109-2115.
- [133] **Nadauld, L. D., & Ford, J. M.** (2013). Molecular profiling of gastric cancer: toward personalized cancer medicine. *J Clin Oncol*, 31(7), 838-839.
- [134] **Grabsch, H. I., & Tan, P.** (2013). Gastric cancer pathology and underlying molecular mechanisms. *Digestive surgery*, 30(2), 150-158.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Burcu Gül
Doğum Tarihi ve Yeri : 05/02/1983
E-posta : burcu.gul23@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2009, Ege Üniversitesi, Fen Fakülte, Biyoloji

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2004 yılında yaz stajında Ege üniversitesi histoloji ve embriyoloji A.B.D ve aynı bölümün kordon kanı bankasında görev aldı.
- 2009-2010 yılları arasında İstanbul Anadolu hastanesinde Biyokimya ve Mikrobiyoloji laboratuvarında çalıştı.
- 2010-2012 yılları arasında özel Ekin Patoloji laboratuvarında çalıştı.
- 2012- yılları arasında ve halen çalışmakta Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hastanesi Patoloji bölümünde görev almaktadır.

YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- 2016 yılında 'Kistik teratom duvarında gelişen koroid pleksus papillomu: Nadir bir olgu sunumu' adlı poster sunumu yapmıştır.