



**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MİDE ADENOKARSİNOMLARINDA KANSER KÖK HÜCRE
İŞARETÇİLERİ OLAN CD44, ALDH-1 VE LGR5'İN
KLİNİKOPATOLOJİK DEĞİŞKENLER İLE İLİŞKİSİ,
SAĞKALIMA ETKİSİ VE MİDE KARSİNOGENEZİNDEKİ ROLÜ**

**Dr. GÜLÇİÇEK KARDAŞ AYRANCI
UZMANLIK TEZİ**

İSTANBUL 2014



**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MİDE ADENOKARSİNOMLARINDA KANSER KÖK HÜCRE
İŞARETÇİLERİ OLAN CD44, ALDH-1 VE LGR5'İN
KLİNİKOPATOLOJİK DEĞİŞKENLER İLE İLİŞKİSİ,
SAĞKALIMA ETKİSİ VE MİDE KARSİNOGENEZİNDEKİ ROLÜ**

**Dr. GÜLÇİÇEK KARDAŞ AYRANCI
UZMANLIK TEZİ**

Danışman: Prof. Dr. ÇİĞDEM ATAİZİ ÇELİKEL

İSTANBUL 2014

ÖNSÖZ

Patolojinin, tıbbın en zor ve en çok disiplin gerektiren dallarından biri olduğunu asistanlık sürecimde öğrendim. Bu süreçte beni en çok etkileyen şey ise patoloji biliminin insanlara, az ile çok fayda sağlayabilmesi oldu. Yaptığımız işte attığımız her adımın büyük titizlik, dikkat ve özen gerektirdiğini öğrendim. Bu güzel ve köklü bilimi bana sevdiren, yoluma ışık tutan bütün hocalarıma minnettarım.

Beni daima teşvik eden, eğitimimde büyük emekleri bulunan, değerli hocalarım başta Prof. Dr. Çiğdem Ataizi Çelikel olmak üzere, Prof. Dr. Handan Kaya, Prof. Dr. Rengin Ahıskalı, Prof. Dr. Funda Eren, Prof. Dr. Leyla Cinel, Doç. Dr. Süheyla Uyar Bozkurt ve Doç. Dr. Kemal Türköz'e, desteklerini her daim hissettiğim, genç akademisyen, sevgili uzmanlarım Doç. Dr. Pelin Bağcı, Yard. Doç. Dr. Emine Baş Bozkurtlar, Yard. Doç. Dr. İpek Erbarut Seven ve Yard. Doç. Dr. Deniz Filinte'ye, biyoistatistik konusunda bana çok yardımcı olan Prof. Dr. Nural Bekiroğlu'na,

Asistanlık sürecimi paylaşmaktan büyük keyif duyduğum, sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Gökçe Aşkan, Dr. Dilek Kaymakçı, Dr. Hande Mollamemişoğlu, Dr. Fatma Gerin, Dr. Erdem Kombak, Dr. Hasan Toper, Dr. Gamze Ak, Dr. Begüm Başyiğit ve Dr. Ekin Parlak'a ve tezimde emeği geçen laboratuvar ekibine,

Bu süreçte, desteklerini esirgemeyen eşim Metin Ayrancı, sevgili annem ve babam, daima yanımda olan kardeşlerim Rıza Can Kardeş ve Alican Kardeş'a teşekkürü bir borç bilirim.

Gülçiçek Kardeş Ayrancı
Ekim 2014
İstanbul

ÖZET

Kanser kök hücre teorisine göre, tümörü oluşturan neoplastik hücreler kendi kendini yenileyebilen kök hücrelerden köken alır. Kanser kök hücre belirteçlerinden CD44, en eski ve en iyi bilinenidir. Lgr5, ise gastrointestinal sistemde yeni tanımlanmıştır. Amacımız; mide adenokarsinomlarında kök hücrelerin, dağılımını, klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisini, sağkalım üzerine etkisini incelemek ve karsinogenez sürecindeki rolünü araştırmaktır.

Çalışma kapsamına MÜTF Pendik EAH'de 2012 ve 2013 yıllarında adenokarsinom tanısı almış 153 gastrektomi olgusu alınmıştır. İncelenen klinikopatolojik parametreler; yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, histolojik tip, derece, evre, lenfovasküler/perinöral invazyon ve stromal yanıt'tır. Olgulara uygulanan CD44, ALDH-1 ve Lgr5 immunohistokimyası tümör ve tümör çevresi dokularda değerlendirilmiştir.

CD44; intestinal fenotip, lenfovasküler invazyon ve stromal yanıt; ALDH-1 proksimal yerleşim, düşük derece ve perinodal invazyon; Lgr5 ise düşük derece, düşük evre ve artmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur. Karsinogenez sürecinde Lgr5'in boyanma şiddetinde artış gözlenmiştir.

Çalışmamızda, her üç belirtecin birbirinden farklı kök hücre gruplarını belirlediği saptanmıştır. CD44'ün kötü prognostik değişkenler ile ilişkisi; işaret ettiği hücrelerin kanser kök hücresi olabileceğini ve tedaviyi yönlendirebileceğini ortaya koymaktadır. ALDH-1 pozitifliğinin proksimal mide tümörlerinde görülmesi, bu işaretçinin ayrı bir kanser kök hücre popülasyonunu temsil ediyor olabileceğini düşündürmüştür. Karsinogenez sürecinde, Lgr5 boyanma şiddetinin giderek artışı, pozitif boyanan hücrelerin bazalden luminal yüzeye doğru yer değiştirmesi, kanser dokularındaki Lgr5 immunekspresyonun özellikle düşük evre, düşük derece olgularda görülmesi ve artmış sağkalımla ilişkisi; Lgr5'in kanser kök hücresinden çok normal doku kök hücresini işaret edebileceğini göstermiştir.

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

According to the cancer stem cell theory, the neoplastic cells forming the tumor mass originate from cells with the capacity of self-renewal. These cells are termed as “cancer stem cells”. CD44 is one of the oldest and most well known markers for stem cells. Lgr5 is a recently found marker for these cells in the gastrointestinal tract. The goal of this study is to determine the distribution of cancer stem cells in gastric adenocarcinomas and to investigate their relationship with clinicopathological factors, survival and steps in gastric carcinogenesis.

153 gastric adenocarcinoma cases diagnosed following gastrectomy between 2012 and 2013 at MÜTF Pendik EAH were included in this study. Investigated clinicopathological factors were age, gender, location of tumor, histological type, grade, stage, lymphovascular/perineural invasion and stromal response. CD44, ALDH-1 and Lgr5 immunohistochemical staining was determined both for the tumor and non-neoplastic gastric tissue.

CD44 staining was found to be related to intestinal morphology, lymphovascular invasion and stromal response. ALDH-1 staining was seen in proximally located cases with low grade and perinodal invasion. Lgr5 staining was correlated with low grade, low stage and increased survival. Lgr5 staining intensity was increased in the progressive steps of carcinogenesis.

In our study, three cancer stem cell markers stained different cell groups. The correlation between CD44 and poor prognostic factors lead us to think that CD44+ cells may be cancer stem cells and play a role in treatment. ALDH-1 positivity found in proximally located carcinomas may be due to a different subset of stem cells. The increase in Lgr5 staining in the carcinogenesis as well as the migration of Lgr5+ cells from the base of the glands to the lumen and also, the correlation between Lgr5 staining and low grade, low stage and increased survival, point to the possibility that Lgr5+ cells might be normal tissue stem/progenitor cells rather than cancer stem cells.

İÇİNDEKİLER

Sayfalar

Önsöz.....	i
Özet.....	ii
İngilizce Özet (Abstract).....	iii
İçindekiler.....	iv
Şekil Dizini	ix
Tablo Dizini	xiii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	xiv
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Embriyoloji ve Anatomi	3
2.1. Embriyoloji	3
2.2. Anatomi.....	3
2.2.1. Midenin kanlanması	4
2.2.2. Midenin inervasyonu.....	5
2.2.3. Midenin lenfatik drenajı.....	5
3. Histoloji	7
3.1. Yüzey Epitelinin Ortak Özellikleri.....	8
3.2. Kardiyak ve Antral Mukoza	8
3.3. Fundik Mukoza	10
3.4. Endokrin Hücreler	10
3.5. <i>Lamina propria</i>	11
3.6. Submukoza.....	12
3.7. Kas Yapıları.....	12
4. Mide Kanseri – Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri.....	14
4.1. Epidemiyoloji.....	14
4.2. Risk Faktörleri	14
4.2.1. Diyet.....	14
4.2.2. <i>Helicobacter pylori</i>	16

5. Mide Kanseri – Patogenez	18
5.1. Karsinogenez Sürecinde Preneoplastik Lezyonlar	19
5.2. Moleküler Patogenez	23
5.2.1. Onkogenler	26
5.2.2. Tümör süpresör genler	26
5.2.3. Epigenetik bozukluklar	28
5.2.4. β -katenin/Wnt sinyal iletim yolu	28
6. Mide Kanseri – Makroskopik Yaklaşım	30
7. Mide Kanseri – Mikroskopik Yaklaşım	31
7.1. WHO Sınıflaması	31
7.1.1. Adenokarsinom sınıflaması	31
7.2. Lauren Sınıflaması	33
7.3. Diğer Sınıflamalar: Ming, Goseki ve Carnerio	33
7.4. Nadir Alt Tipler	34
7.5. Sendromlarla İlişkili Alt Tipler	36
7.6. Mide Karsinomlarında İmmünohistokimya	37
8. Mide Kanseri – Klinikopatolojik Yaklaşım	39
8.1. Erken Mide Kanseri	39
8.2. Prognoz	39
8.3. Prognostik Parametreler	40
8.3.1. Evre	40
8.3.2. Derece (<i>Grade</i>)	43
8.3.3. Tümör lokalizasyonu	43
8.3.4. Yaş ve cinsiyet	44
8.3.5. Tümör çapı	44
8.3.6. Mikroskopik tip	45
8.3.7. Lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon	45
8.3.8. Stromal yanıt	45
8.3.9. C-erb-b2 (HER2)	45
8.3.10. EBV	46
9. Mide Kanseri – Kök Hücreler	47

9.1. Mide Epiteli Kök Hücreleri.....	50
9.2. Mide Kanseri Kök Hücreleri.....	51
9.2.1. Kanser kök hücrelerinin kökeni.....	51
9.2.2. Kanser kök hücrelerinin tespiti.....	52
9.3. Sık Kullanılan Kanser Kök Hücre Belirteçleri.....	54
9.3.1. CD44.....	54
9.3.2. CD133.....	56
9.3.3. ALDH-1.....	56
9.3.4. Nestin.....	57
9.3.5. Musashi-1.....	57
9.3.6. Lgr5.....	57
9.4. Kök Hücrelerde Sinyal İletim Yolları.....	60
9.4.1. Wnt/ β -katenin sinyal iletim yolu.....	60
9.4.2. Hedgehog sinyal iletim yolu.....	62
9.4.3. Notch sinyal iletim yolu.....	63
9.4.4. BMP sinyal iletim yolu.....	64
9.5. Kök Hücrelerin Bulunduğu Ortam (<i>Niche</i>).....	65
9.6. Kök Hücrelerinin Tedavideki Yeri.....	68
10. Çalışmanın Amacı.....	70
11. Materyal ve Metod.....	71
11.1. Etik Kurul Onayı.....	71
11.2. Olgu Seçimi.....	71
11.3. Klinik ve Histopatolojik Veriler.....	71
11.3.1. Klinik veriler.....	71
11.3.2. Klinik izlem verileri.....	71
11.3.3. Histopatolojik veriler.....	71
11.4. İmmunohistokimya (İHK).....	74
11.4.1. İHK – Uygulama yöntemi.....	74
11.4.2. İHK – İmmünekspresyonun değerlendirilmesi.....	76
11.5. İstatistiksel Analizler.....	88
12. Bulgular.....	89

12.1. Klinik Bulgular	89
12.2. Histopatolojik Bulgular	89
12.3. Klinikopatolojik Bulgular Arası İlişkiler	94
12.3.1. Histolojik tip – Diğer klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi	94
12.3.2. Derece – Diğer klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi	95
12.3.3. Evre – Diğer klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi	96
12.4. İHK Bulguları	97
12.4.1. CD44	97
12.4.2. ALDH-1	102
12.4.3. Lgr5	106
12.4.4. İHK belirteçlerinin birbirleri ile olan ilişkisi	110
12.5. Takip ve Sağkalım Analizleri	111
12.5.1. Klinikopatolojik değişkenler – sağkalım ilişkisi	111
12.5.2. İHK belirteçleri – sağkalım ilişkisi	116
12.5.3. Sağkalım üzerine Lgr5’in bağımsız etkisinin değerlendirilmesi	119
12.6. Karsinogenez	120
12.6.1. Lgr5 – karsinogenez süreci	120
13. Tartışma	124
14. Sonuçlar	139
15. Resimler	141
15.1. İHK Belirteçleri	141
15.1.1. CD44	141
15.1.2. ALDH-1	143
15.1.3. Lgr5	144
15.2. İHK Belirteçlerinin Karşılaştırılması	146
15.2.1. Olgu 1	146
15.2.2. Olgu 2	150
15.2.3. Olgu 3	152
15.2.4. Olgu 4	154
15.3. Lgr5 – Karsinogenez	156
15.3.1. Olgu 5	156

15.3.2. Olgu 6	157
15.3.3. Olgu 7	158
15.3.4. Olgu 8	159
15.3.5. Olgu 9	159
15.3.6. Olgu 10	160
15.3.7. Olgu 11	163
15.3.8. Olgu 12	165
16. Bibliyografya	166

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Midenin anatomisi.....	4
Şekil 2. Midenin histolojisi.....	13
Şekil 3. Borrmann makroskopik sınıflama.....	30
Şekil 4. Mide kanserinde evre ile sağkalım ilişkisi	42
Şekil 5. Siewert sınıflaması	44
Şekil 6. Kanser gelişiminde stokastik model ve kök hücre modeli.....	48
Şekil 7. Kanser kök hücrelerinin tespiti	54
Şekil 8. Lgr5 sinyal iletim yolu	58
Şekil 9. Wnt/ β -katenin sinyal iletim yolu	61
Şekil 10. Hedgehog sinyal iletim yolu	63
Şekil 11 Kök hücrelerin bulunduğu ortam (<i>niche</i>).....	68
Şekil 12. İntestinal tip adenokarsinom, negatif CD44 boyanması (İHK, $\times 20$)......	77
Şekil 13. İntestinal tip adenokarsinom, CD44 boyanması 1(+) (İHK, $\times 20$).	77
Şekil 14. İntestinal tip adenokarsinom, CD44 boyanması 2(+) (İHK, $\times 20$).	77
Şekil 15. İntestinal tip adenokarsinom, CD44 boyanması 3(+) (İHK, $\times 20$).	78
Şekil 16. Diffüz tip adenokarsinom, CD44 boyanması 1(+) (İHK, $\times 20$)......	78
Şekil 17. Diffüz tip adenokarsinom, CD44 boyanması 2(+) (İHK, $\times 20$)......	78
Şekil 18. Diffüz tip adenokarsinom, CD44 boyanması 3(+) (İHK, $\times 20$)......	79
Şekil 19. İntestinal tip adenokarsinom, negatif ALDH-1 boyanması (İHK, $\times 20$)......	79
Şekil 20. İntestinal tip adenokarsinom, ALDH-1 pozitifliği (İHK, $\times 20$)......	80
Şekil 21. İntestinal tip adenokarsinom, ALDH-1 boyanması 3(+) (İHK, $\times 20$)	80
Şekil 22. Diffüz tip adenokarsinom, negatif ALDH-1 boyanması (İHK, $\times 20$)	80
Şekil 23. Diffüz tip adenokarsinom, ALDH-1 boyanması 1(+) (İHK, $\times 20$)	81
Şekil 24. Diffüz tip adenokarsinom, ALDH-1 boyanması 2(+) (İHK, $\times 20$)	81
Şekil 25. Diffüz tip adenokarsinom, ALDH-1 boyanması 3(+) (İHK, $\times 20$)	81
Şekil 26. İntestinal tip adenokarsinom, negatif Lgr5 boyanması (İHK, $\times 20$)	82
Şekil 27. İntestinal tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 1(+) (İHK, $\times 20$)	82
Şekil 28. İntestinal tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 2(+) (İHK, $\times 20$).	83
Şekil 29. İntestinal tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 3(+) (İHK, $\times 20$).	83

Şekil 30. Diffüz tip adenokarsinom, negatif Lgr5 boyanması (İHK, ×20).....	83
Şekil 31. Diffüz tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 1(+) (İHK, ×20).....	84
Şekil 32. Diffüz tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 2(+) (İHK, ×20).....	84
Şekil 33. Diffüz tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 3(+) (İHK, ×20).....	84
Şekil 34. Lüminal Lgr5 boyanması (İHK, ×10).....	85
Şekil 35. Lüminal Lgr5 boyanması (İHK, ×20).....	85
Şekil 36. Lüminal dışı Lgr5 boyanması (lenfatik invazyon) (İHK, ×10)	86
Şekil 37. Lüminal dışı Lgr5 boyanması (diffüz boyanma) (İHK, ×10).....	86
Şekil 38. Histopatolojik bulgular	93
Şekil 39. CD44 ekspresyonu histolojik tip ilişkisi.....	100
Şekil 40. CD44 ekspresyonu duvar yayılımı ilişkisi.....	100
Şekil 41. CD44 ekspresyonu lenfatik invazyon ilişkisi	100
Şekil 42. CD44 ekspresyonu vasküler invazyon ilişkisi.....	101
Şekil 43. CD44 ekspresyonu desmoplastik yanıt ilişkisi	101
Şekil 44. ALDH-1 ekspresyonu histolojik tip ilişkisi.....	105
Şekil 45. Lgr5 ekspresyonu derece ilişkisi.....	108
Şekil 46. Lgr5 ekspresyonu duvar yayılımı (T) ilişkisi	109
Şekil 47. Lgr5 ekspresyonu evre ilişkisi.....	109
Şekil 48. Histolojik tip – sağkalım grafiği.....	113
Şekil 49. Derece – sağkalım grafiği.....	113
Şekil 50. Duvar yayılımı (T) – sağkalım grafiği	113
Şekil 51. Lenf nodu tutulumu (N) – sağkalım. grafiği	114
Şekil 52. Evre – sağkalım grafiği	114
Şekil 53. Lenfatik invazyon – sağkalım grafiği.....	114
Şekil 54. Vasküler invazyon – sağkalım grafiği.....	115
Şekil 55. Lenfositik yanıt – sağkalım grafiği.....	115
Şekil 56. CD44 ekspresyonu – sağkalım grafiği.....	116
Şekil 57. ALDH-1 ekspresyonu – sağkalım grafiği.....	117
Şekil 58. Lgr5 ekspresyonu – sağkalım grafiği	118
Şekil 59. Lgr5 boyanma patterni – sağkalım grafiği.....	119
Şekil 60. Karsinogenez sürecinde Lgr5 skorlarının dağılımı.....	123

Şekil 61. Diffüz tip adenokarsinom (H&E, ×20)	141
Şekil 62. Diffüz tip adenokarsinomda negatif CD44 boyanması (İHK, ×20)	141
Şekil 63. İntestinal tip adenokarsinom (H&E, ×20)	142
Şekil 64. İntestinal tip adenokarsinomda kuvvetli membranöz CD44 boyanması (×20) ..	142
Şekil 65. Proksimal yerleşimli intestinal tip adenokarsinom (H&E, ×20).	143
Şekil 66. Proksimal yerleşimli intestinal tip adenokarsinom, ALDH-1 boyanması (×20)	143
Şekil 67. Yüksek dereceli adenokarsinomda, negatif Lgr5 boyanması (İHK, ×10)	144
Şekil 68. Yüksek dereceli adenokarsinomda, negatif Lgr5 boyanması (İHK, ×20).	144
Şekil 69. Düşük dereceli intestinal tip adenokarsinom (H&E, ×20).	145
Şekil 70. Düşük dereceli intestinal tip adenokarsinomda Lgr5 boyanması (İHK, ×20). ...	145
Şekil 71. İntestinal tip adenokarsinom (H&E, ×10).	146
Şekil 72. CD44 ile negatif boyanma (İHK, ×10).	147
Şekil 73. CD44 ile negatif boyanma (İHK, ×20).	147
Şekil 74. ALDH-1 ile orta şiddette sitoplazmik boyanma (İHK, ×10).	148
Şekil 75. ALDH-1 ile orta şiddette sitoplazmik boyanma (İHK, ×20).	148
Şekil 76. Lgr5 ile kuvvetli lüminal sitoplazmik/membranöz boyanma (İHK, ×10)	149
Şekil 77. Lgr5 ile kuvvetli lüminal sitoplazmik/membranöz boyanma (İHK, ×20).	149
Şekil 78. Diffüz tipte adenokarsinom (lenfatik içinde) (H&E, ×20).	150
Şekil 79. CD44 ile orta şiddette membranöz boyanma (İHK, ×20).	150
Şekil 80. ALDH-1 ile orta şiddette sitoplazmik boyanma (İHK, ×20).	151
Şekil 81. Lgr5 ile hafif şiddette granüler boyanma (İHK, ×20).	151
Şekil 82. İntestinal tip adenokarsinom (H&E, ×20).	152
Şekil 83. CD44 ile yamasal kuvvetli membranöz boyanma (İHK, ×20)	152
Şekil 84. ALDH-1 ile diffüz, orta şiddette sitoplazmik boyanma (İHK, ×20)	153
Şekil 85. Lgr5 ile negatif boyanma (İHK, ×20).	153
Şekil 86. İntestinal tip adenokarsinom (H&E, ×20)	154
Şekil 87. CD44 ile fokal, orta şiddette membranöz boyanma (İHK, ×20)	154
Şekil 88. ALDH-1 ile negatif boyanma (İHK, ×20).	155
Şekil 89. Lgr5 ile fokal, hafif şiddette granüler boyanma (İHK, ×20)	155
Şekil 90. Antral mukozada, kript tabanlarında, hafif şiddette Lgr5 boyanması (×20)	156
Şekil 91. Oksintik mukozada, hafif şiddette Lgr5 boyanması (İHK, ×20)	156

Şekil 92. Normal gastrik mukoza–intestinal metaplazi geçişi (H&E, ×10).....	157
Şekil 93. Normal gastrik mukoza–intestinal metaplazi geçişi (Lgr5 İHK, ×10).....	157
Şekil 94. Normal gastrik mukoza–intestinal metaplazi geçişi (Lgr5 İHK, ×20).....	158
Şekil 95. İntestinal metaplazi, yüzeye doğru ilerleyen, Lgr5 boyanması (×20)	158
Şekil 96. Düşük dereceli displazi, kript tabanlarında Lgr5 boyanması (×20).....	159
Şekil 97. Yüksek dereceli displazi, lüminal yüzeyde şiddetli Lgr5 boyanması (İHK, ×20)	159
Şekil 98. Displazi–adenokarsinom geçişi (H&E, ×10).....	160
Şekil 99. Displazi odağı (H&E, ×20).	160
Şekil 100. Adenokarsinom odağı (H&E, ×20).	161
Şekil 101. Displazi–adenokarsinom geçişi (Lgr5 İHK, ×10).....	161
Şekil 102. Displazi odağında, kript tabanlarında orta şiddette Lgr5 boyanması (×20)	162
Şekil 103. Adenokarsinom, lüminal yüzeyde şiddetli Lgr5 boyanması (İHK, ×20).....	162
Şekil 104. Displazi–adenokarsinom geçişi (H&E, ×10).....	163
Şekil 105. Displazi–adenokarsinom geçişi (Lgr5 İHK, ×10).....	163
Şekil 106. Düşük dereceli displazi odağında, orta şiddette Lgr5 boyanması (İHK, ×20)..	164
Şekil 107. Yüksek dereceli displazi–adenokarsinom geçişi (İHK, ×20).....	164
Şekil 108. Adenokarsinom, şiddetli sitoplazmik/membranöz Lgr5 boyanması (×20).	165

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Padova sınıflaması	23
Tablo 2. Mikroskopik sınıflama	34
Tablo 3. Mide karsinomlarında sendrom ile ilişkili alt tipler.....	37
Tablo 4. Mide kanseri evreleme	41
Tablo 5. Mide kanserinde evre ile prognozun ilişkisi.....	42
Tablo 6. Mide epitel kök hücreleri.....	51
Tablo 7. CD44 ve CD133'ün literatürdeki yeri.....	60
Tablo 8. Klinikopatolojik parametrelerin değerlendirilmesi.....	73
Tablo 9. Çalışmada kullanılan İHK belirteçleri	75
Tablo 10. Ek İHK boyaları	75
Tablo 11. Boyanma skoru hesaplanması.....	76
Tablo 12. Lgr5 total skoru (tümör ve tümör çevresi)	88
Tablo 13 Histolojik tip-klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi	94
Tablo 14 Derece-klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi.....	95
Tablo 15 Evre-klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi	96
Tablo 16. Olguların CD44 skorları dağılımı.....	97
Tablo 17. CD44 ekspresyonunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi.....	98
Tablo 18. CD44 boyanma skorunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi	102
Tablo 19. Olguların ALDH-1 skorları dağılımı	102
Tablo 20. ALDH-1 ekspresyonunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi.....	103
Tablo 21. ALDH-1 boyanma skorunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi	105
Tablo 22. Olguların Lgr5 skorları dağılımı.....	106
Tablo 23. Lgr5 ekspresyonunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi	107
Tablo 24. Lgr5 boyanma skorunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi.....	110
Tablo 25. Klinikopatolojik değişkenlerin sağkalım ile ilişkisi.....	111
Tablo 26. Cox regresyon analizi (derece, duvar yayılımı, Lgr5 ekspresyonu).....	120
Tablo 27. Cox regresyon analizi (derece, evre ve Lgr5 ekspresyonu).....	120
Tablo 28. Normal-intestinal metaplazi-displazi-neoplazi: total skorlar	121
Tablo 29. Displazi-adenokarsinom: boyanma şiddeti ve boyanma yüzdesi.....	122

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

H&E	:	Hematoksilen ve eozin
PAS	:	Periyodik asit-Schiff
MG	:	Modifiye Giemsa
İHK	:	İmmunohistokimya
CSC	:	Kanser kök hücresi
HP	:	<i>Helicobacter pylori</i>

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mide kanseri, tüm dünyada en sık görülen kanserlerden biridir. Son yüzyılda görülme sıklığında azalma olmasına karşın gelişmekte olan ülkelerde kansere bağlı ölümler arasında hala ilk sıralarda yer almaktadır^{1,2}.

Türkiye’de ise, 70 yaş üstü hastalarda en sık görülen kanserler arasında 5. sıradadır ve hastalar sıklıkla ileri evrede tanı almaktadır (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu bileşik veri tabanı). Demir ve arkadaşlarının yayınladığı geniş vaka serisinde; Türkiye’deki mide kanseri hastalarının batı toplumuna göre daha genç yaşta ve daha ileri evrede olduğu, proksimal yerleşimli mide kanseri vakalarının ise daha az sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir³.

Mide kanseri tedavisinde, cerrahi tedavi başta olmak üzere kemoterapi ve/veya radyoterapi, tedavi protokolleri arasında yer almaktadır. Yoğun tedaviye rağmen mide kanseri hastalarında beş yıllık sağkalım oranı % 15 ile % 35 arasında bildirilmiştir. Düşük sağkalım oranından yüksek rekürrens, kemoterapiye rağmen erken nüks sorumlu tutulmaktadır¹.

Mide kanseri patogenezinde; kronik gastrit zemininde sırasıyla, atrofi, metaplazi, displazi ve karsinom şeklinde ilerleyen çok basamaklı karsinogenez modeli sorumlu tutulmaktadır⁴. Tanımlanan modelde, farklı basamaklarda meydana gelen çeşitli genetik mutasyonların kümülatif etkileri sonucu karsinomun geliştiği düşünülmektedir. Mide kanserlerinde görülen tümöral heterojenitenin bu süreç ile açıklanabileceği vurgulanmaktadır.

Ancak özellikle son on yılda yapılan çalışmaların yoğunlaştığı kanser kök hücre teorisi, mide kanseri gelişimine farklı bir bakış açısı getirmiştir⁵. Kanser kök hücresi görüşüne göre mide kanserinin, kök hücreden gelişip daha sonra daha farklılaşma gösteren olgun kanser hücrelerine dönüştüğüne inanılmaktadır⁶. Mevcut kemoterapi ilaçlarının, hızlı bölünüp çoğalabilen, farklılaşma gösteren tümör hücrelerine etkili olduğu; ancak kök hücrelerine etki etmediği bilinmektedir. Yo-

ğun kemoterapi rejimlerine rağmen görülen nükslerden tümör kitlesindeki bu kanser kök hücrelerinin varlığı sorumlu tutulmaktadır⁷.

Kanser kök hücrelerinin belirlenmesinde, farklı çalışmalarda çeşitli yüzey molekülleri kullanılmıştır. Bunlardan CD44 en eski ve en iyi bilinenidir⁸⁻¹⁰. Çok yakın bir zamanda, Lgr5 isimli protein içeren normal mide mukoza kök hücreleri ve mide kanser kök hücreleri gösterilmiştir¹¹. Yapılan çalışmalarda gastrointestinal sistemde Lgr5'in normal mukoza, pre-neoplastik ve neoplastik dokularda kademeli olarak artan ekspresyonunun gösterilmesi bu molekülün karsinogenez sürecinde rolü olabileceğini düşündürmüştür^{12,13}. ALDH-1 ise birçok dokuda kök hücre işaretçisi olarak tanımlanmış ve kanser dokularında kötü prognozla ilişkilendirilmiştir¹⁴⁻¹⁶.

Çalışmamızda, mide kanseri olgularında CD44, ALDH-1 ve Lgr5'in ekspresyonu immünohistokimya yöntemi kullanarak değerlendirilmiştir. Lgr5'in ekspresyonu tümör ve tümör çevresinde, CD44 ve ALDH-1'in ekspresyonu ise tümör dokusunda değerlendirilmiştir.

Bu çalışmadaki amaçlarımız; a) mide kanserlerinde kök hücrelerinin varlığını ve dağılımını değerlendirmek, b) kök hücre dağılım ve oranlarının klinikopatolojik parametreler ve sağkalım ile olan ilişkisini incelemek, c) kök hücrelerin neoplastik süreçteki rolünü araştırmaktır.

2. EMBRİYOLOJİ VE ANATOMİ

2.1. Embriyoloji

Mide, endoderm kökenli ön bağırsağın (*foregut*), özofagusun kaudalinde, iğsi şekilde dilate olmasıyla gelişir. Bu dilatasyon, 7 mm uzunluğundaki embriyoda görülür. Mide, başlangıçta batının arka duvarına ve diyaframa, sırasıyla dorsal ve ventral mezogastrium aracılığıyla bağlıdır. Mide genişledikçe, dorsal mezogastriumdan *omentum majus* (büyük omentum) ve ventral mezogastriumdan *omentum minus* (küçük omentum) gelişir.

Embriyo 80 mm uzunluğa erişince, midede ilk bez yapıları görülmeye başlar. Enzim üretimi ve asit salgısı, fetal gelişimin dördüncü ayında başlayıp, doğuma kadar olgunlaşır. Yenidoğan midesi tamamen olgunlaşmış ve bir yetişkin midesi görünümündedir.

2.2. Anatomi

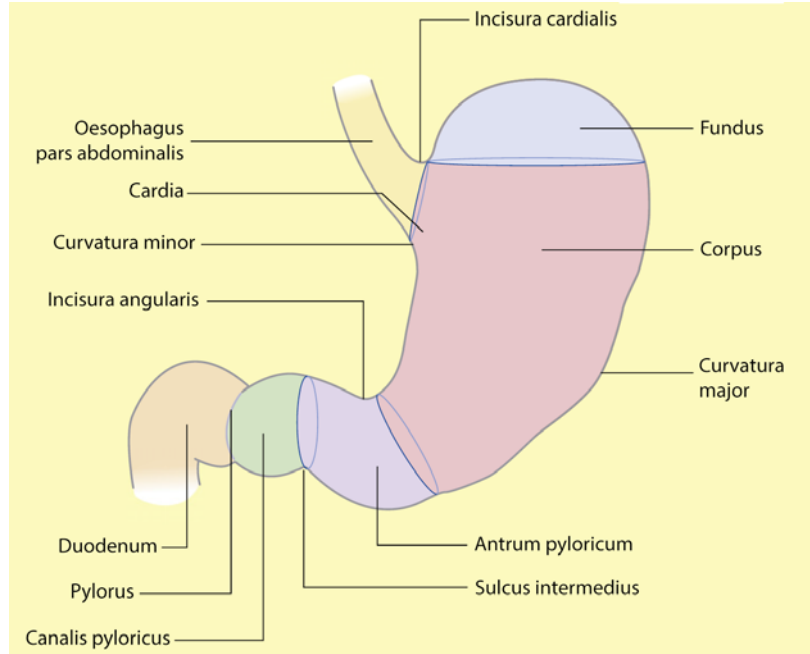
Mide, batının sol üst kadranında yer alan, “J” harfi biçiminde bir organdır. Üst ucu, diyaframın birkaç santimetre altında özofagusa bağlanır. Alt ucu ise, midsagittal hattın hemen sağında duodenuma açılır. Midenin hacmi değişkendir, içindeki yiyecek miktarına göre belirgin derecede genişleyebilir.

Mide anatomik olarak dört kısma ayrılabilir: (1) Kardiya, (2) Fundus, (3) Korpus ve (4) Antrum. Midenin üst iç yüzü *curvatura minor gastris* (küçük kurvatur), alt dış yüzü ise *curvatura major gastris* (büyük kurvatur) olarak adlandırılır. Kardiya, gastroözofagiya bileşmeden başlayan ve 1-3 cm distale uzanım gösteren küçük bir alandır. Fundus, yükseklik açısından gastroözofagiya bileşkenin üzerinde bulunan ve sol hemidiyaframın hemen altına yer alan, midenin kubbe biçimli kısmıdır. Antrum, midenin distal 1/3'ünü oluşturur ve pilor kanalıyla duodenuma açılır. Midenin geri kalan kısmına korpus adı verilir. Korpustan antruma

geçişin keskin ve ani olmadığı, anatomik olarak küçük kurvatürün katlantı noktası olan *incisura angularis*'ten başladığı kabul edilir (Şekil 1).

Midenin iç yüzeyi, “ruğa” adı verilen kalın katlantılarla döşelidir. Bu katlantılar mide boşken belirgindir, ancak midenin genişleyip yüzeyinin gerginleşmesiyle düzleşip silikleşirler. Rugalar, korpus ve fundusta en belirgindir.

Mide duvarı dört tabakadan oluşur: (1) Mukoza, (2) Submukoza, (3) Muscularis propria ve (4) Subseroza. Mukoza haricindeki diğer üç tabaka, bütün gastrointestinal sistem boyunca benzer özelliklere sahiptir.



Şekil 1. Midenin anatomisi¹⁷

2.2.1. Midenin kanlanması

Mideyi besleyen başlıca 5 arter vardır. Sol gastrik arter, aortadan çıkan *truncus coeliacus*'un (çölyak arter) bir dalıdır ve kardiyayı besler. Küçük kurvatürü besleyen sağ gastrik arter ve büyük kurvatürü besleyen sağ gastroepiploik arter, çölyak arterin bir dalı olan hepatik arterden çıkarlar. Sol gastroepiploik arter ve kısa gastrik arterler, çölyak arterin üçüncü ve son dalı olan splenik arterden çıkıp büyük kurvatürü beslerler. Bütün bu arterler birbirleriyle serbest bir şekilde anasto-

moz yapar ve subseroza tabakasında arteriyal damar ağırları oluştururlar. Arteriyal pleksuslardan çıkan mukozal arterler ise, mukozanın kendilerine ait olan kısmını beslerler. Midenin bu derece zengin beslenmesi ve anastomozların yaygın olması, mideyi olası bir infarktüstten korur.

2.2.2. Midenin innervasyonu

Midenin sempatik innervasyonu, çölyak pleksustan çıkan ve gastrik ile gastroepiploik arterleri takip eden sinirler yoluyla sağlanır. Sağ ve sol frenik sinirden çıkan dallar da bu sinir liflerine katılır. Parasempatik innervasyon, gastroözofagiyal bileşkede vagustan ayrılan ön ve arka dallarla (*truncus vagalis anterior* ve *truncus vagalis posterior*) sağlanır. *Truncus vagalis* seviyesinde yapılan vagatomiler, yalnız midenin değil, bütün bağırsağın parasempatik innervasyonunu keser. Yüksek selektif vagotomide ise, *truncus vagalis*'lerin küçük kurvatür boyunca ilerlerken verdikleri lateral dallar ayrılarak kesilir, ancak antrumunu innerve eden terminal uç bırakılır. Böylece yalnız midenin korpusunun parasempatik innervasyonu baskılanır. Sempatik ve parasempatik sinirler mide duvarına girdikten sonra, *muscularis propria*'da sirküler ve longitudinal kas lifleri arasında Auerbach sinir pleksusunu, submukozada ise Meissner sinir pleksusunu oluştururlar.

2.2.3. Midenin lenfatik drenajı

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, lenfatik kanalların *lamina propria*'nın bütün seviyelerinde mevcut olduğu görüşünün yanlış olduğunu ortaya koymuştur. Elektron mikroskopisi ile yapılan detaylı incelemelerde, lenfatik kanalların yalnız *muscularis mukoza*'nın bitişiğindeki *lamina propia*'da bulunduğu tespit edilmiştir. Buradan çıkan lenfatik kanallar, *muscularis mukoza* tabakasını delerek, submukoza-daki daha büyük lenfatik kanallara açılırlar. Lenfatiklerin tanımlanan yerleşimleri, *muscularis mukoza*'ya ulaşmamış erken evre mide kanserlerinde de lenfatik metastaz görülmesini açıklamaktadır.

Midenin ana lenfatik damarları, arter ve venlerini takip eder. Midede, her birinin kendine ait lenf nodları bulunan dört ayrı drenaj alanı vardır. En büyük alan, özofagusun distal ucundan başlayıp küçük kurvatürün çoğunu kapsayacak şekilde distale doğru uzanır. Bu bölgeyi *sol gastrik lenf nodları* drene eder. Küçük kurvaturun distalinden pilora doğru uzanan bölgenin lenfatik drenajı ise, *sağ gastrik ve hepatik lenf nodları*dır. Büyük kurvatürün proksimal kısmının lenfatik kanalları, dalağın hilusundaki *pankretikosplenik lenf nodlarına*; distal kısmının lenfatik kanalları ise, *omentum majus*'taki *sağ gastroepiploik lenf nodları* ile pankreasın baş bölgesindeki *pilorik lenf nodlarına* dökülür. Bütün bu lenf nodları, *truncus coeliacus*'un etrafındaki çölyak lenf nodlarına drene olur.

3. HİSTOLOJİ

Mide mukozası, bütün mide anatomik bölgelerinde benzer özelliklere sahiptir ve iki kısımdan oluşur: 1) Mide epitelinin içe doğru katlanması sonucu gelişen yüzeysel çukurcuklar (*foveolae, pits*) 2) Daha derinde bulunan, foveolaların tabanına açılan bezler. Derindeki bezlerin, bulunduğu anatomik bölgeye göre farklı yapı ve işlevleri vardır (Şekil 2).

Gastroözofagiyaal bileşkenin komşuluğunda kardiyak mukoza bulunur. Buradaki bezler mukus salgılar. Midenin distalinde, pilordan proksimale doğru uzanan antrum bölgesinde, pilorik (antral) mukoza vardır. Antral mukozaki bezler de mukus salgılar. Antral mukozanın bulunduğu bölge üçgen şeklindedir, küçük kurvatür'e doğru 5-7 cm, büyük kurvatür'e doğru 3-4 cm boyunca uzanır. Anatomik antral bölge ile histolojik antral mukoza bölge birebir örtüşmez¹⁸. Antral mukozanın başlangıcı, *incisura angularis*'ten önce veya sonra olabilir. Korpus ve fundusta, fundik (oksintik) mukoza bulunur. Bu mukozanın özelliği hidroklorik asit ve pepsin salgılayan bezleri içermesidir. Fundik mukozadan antral mukozaya geçiş kademeli olup, arada 1-2 cm'lik bir geçiş bölgesi vardır. Bu bölgedeki mukoza, histolojik olarak fundik ve antral mukoza özelliklerini birlikte gösterir. Pilorun duodenuma açıldığı alandaki mukoza da benzer şekilde geçişlidir.

Bu iki geçiş bölgesinden farklı olarak, özofagusun non-keratinize skuamöz epitelinden kardiyak mukozaya geçiş, histolojik ve makroskopik olarak anidir. Yalnız histolojik olarak bu geçişin görüldüğü yer olan skuamokolumnar bileşke ile, anatomik olarak özofagusun mideyle birleştiği gastroözofagiyaal bileşke örtüşmeyebilir. Bazı kişilerde mukozanın geçiş yaptığı bölge, gaströzofagiyaal bileşkenin 0,5-2,5 cm proksimalinde bulunup, tipik daire şeklinde değil, testere dişi (*serrated*) şeklindedir (Z çizgisi).

3.1. Yüzey Epitelinin Ortak Özellikleri

Gastrik mukoza, mukus salgılayan kolumnar hücrelerle döşelidir. Yüzey ve foveolardaki epitelyal hücreler, bütün mide boyunca benzer özellik gösterir. Gastrik bezler, foveolaların tabanlarına açılır ve bu ikisi birbirinden *lamina propria* tabakası ile ayrılır. Foveolalar kardiyak ve antral mukozada, diğer bölgelere kıyasla daha geniştir.

Gastrik epitel hücreleri uzun kolumnar hücrelerdir, bazal yerleşimli çekirdekleri ve neredeyse tamamı mukus dolu sitoplazmaları vardır. Çekirdeklerde kromatin, kümelenme yapmayıp eşit olarak dağılmıştır. Bazen belirsiz bir çekirdekçik de izlenebilir. Hematoksilin ve eozin (H&E) ile boyanmış kesitlerde, kullanılan boyaya ve boyama tekniğine bağlı olarak, mukus farklı şekilde görülebilir. Mesela, alkollü eozin çözeltisi ile boyanan kesitlerde mukus berrak veya hafif eozinofilik boyanan tek bir vakuol olarak görünür. Sulu eozin çözeltisi kullanıldığında ise, mukus çok daha eozinofilik bir hal alıp, küçük ve birbirine bitişmiş çok sayıda vakuol şeklindedir. Foveolar mukus, histokimyasal olarak, nötr periyodik asit-Schiff (PAS) boyasıyla boyanırken, asidik ($\text{pH} \leq 2,5$) Alcian mavisıyla boyanmaz.

3.2. Kardiyak ve Antral Mukoza

Kardiyak ve antral mukozada foveolalar, mukoza kalınlığının yaklaşık yarısı boyunca uzanır. Kardiyak ve antral mukozadaki bezler de mukus salgılar. Midenin diğer bölgelerinde olduğu gibi, bezler ile foveolalar arasında bir destek tabakası olan *lamina propria* tabakası vardır.

Mukozadaki bezleri oluşturan hücrelerin sınırları belirsizdir. Bu hücrelerin sitoplazmaları, yüzey ve foveolar epitel hücrelerinden farklı olarak, duodenumdaki Brunner bezlerini andırır şekilde köpüksüdür. Kardiyak ve antral mukozada, tek tek veya küçük gruplar halinde pariyetal hücrelere rastlanabilir. Bu hücreler daha çok antral mukozada, özellikle de fundik mukozadan antral mukozaya geçiş bölge-

sinde görülür. Bununla beraber, fundik mukoza ve geçiş bölgesi dışında zimojenik yani esas hücrelerin görülmesi çok nadirdir. Antral bölgedeki bezler yalnızca nötral müsin salgılar. Kardiyadaki bezler ise, nötral müsin ek olarak, az miktarda siyalomüsin salgılayabilir.

Kardiyak mukozanın sınırları, hatta bizzat bu mukozanın varlığı, literatürde tartışma konusudur. Chandrasoma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, rastgele seçilmiş yetişkin otopsilerinde gastroözofageal bileşkedeki histolojik kesitler alınmıştır. Vakaların % 27'sinde saf kardiyak mukoza, % 44'ünde mukus salgılayan hücreler ile pariyetal hücrelerin karışık bulunduğu kardiyofundik mukoza ve kalan % 29'unda saf fundik mukoza tespit edilmiştir. Seçilmiş yetişkin otopsilerinin gastroözofageal bileşkeleri tamamen incelendiği zaman vakaların tümünde kardiyofundik mukoza bulunduğu ve otopsi vakalarının sadece % 44'ünde saf fundik mukoza alanı görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca, saf kardiyak ve kardiyofundik mukozaların inkomplet olduğu, yani alınan bazı kesitlerde saf fundik mukozanın hemen komşuluğunda özofageal skuamöz epitelin bulunduğu bildirilmiştir. Kardiyak ve kardiyofundik mukozanın ortalama uzunluğu 5mm dir ve en fazla 15 mm'ye kadar uzandığı tespit edilmiştir¹⁹. Buna karşın, 2 farklı çalışmada (Kilgore ve ark, Zhou ve ark.) fetüs ve çocuklarda saf kardiyak mukozanın vakaların tamamında görüldüğü bildirilmiştir. Vakaların yaklaşık üçte birinde kardiyak ve fundik mukoza geçişi anidir, üçte ikisinde ise kardiyofundik mukoza mevcuttur ve en fazla 1mm uzunluktadır^{20,21}.

Gastroözofageal reflü hastalığı veya midenin *H. pylori* (HP) ile enfekte olması durumunda kardiyak mukozada ikincil değişiklikler başlar. Bunlar nükleer atipi, intestinal metaplazi ve hibrid mukoza varlığıdır. Hibrid mukoza altta skuamöz, yüzeyde ise kolumnar hücrelerin olduğu çok katlı epiteli tanımlar. Kardiyak mukozada inflamasyon ve hasara bağlı görülen bu değişiklikleri glandüler metaplaziden (Barrett özofagusu) ayırmak çok güçtür.

3.3. Fundik Mukoza

Fundik (oksintik) mukozada, foveolalar mukoza kalınlığının dörtden birinden azını oluşturur. Fundik mukoza bezleri, kardiyak ve antral mukoza bezlerine kıyasla, düz ve birbirine yakın şekilde kümelenmiştir. Bu bezler üç kısma ayrılır: 1)Taban, 2)Boyun, ve 3)İstmus. Taban kısmında esas olarak zimojenik hücreler bulunur. Bu hücreler “esas hücreler” (*chief cells*) olarak da adlandırılır ve pepsinojen salgılar. Esas hücreler küboidal biçimlidir. Bazal yerleşimli çekirdeklerinde, bir veya daha fazla küçük çekirdekçik vardır. Sitoplazmaları soluk mavi-gri renklidir. İstmustaki baskın hücre grubu pariyetal hücrelerdir. Hidroklorik asit ve intrinsek faktör salgılayan bu hücreler, tabanları bazal membrana oturan üçgen şeklindedir. Pariyetal hücrelerin çekirdekleri ortada bulunur ve kromatinleri eşit dağılmıştır. Sitoplazmaları H&E kesitlerde koyu pembe renktedir. Boyun kısmında, zimojenik esas hücreler ve pariyetal hücrelere ek olarak, bu bölgeye has, mukus salgılayan boyun hücreleri bulunur. H&E kesitlerde boyun bölgesini tespit etmek oldukça güçtür. PAS boyasında ise, kardiyak ve antral mukozadaki mukus salgılayan hücrelere benzeyen bu hücreler kolayca görülebilir. Boyun mukus hücreleri, nötral müsinin yanısıra asidik siyalomüsin de salgılar.

Yapılan çalışmalar, midenin tamamında bulunan boyun kısmının, mide mukozasının yenilenmesinden sorumlu kök hücreler içerdiğini göstermektedir. Kök hücreler farklılaşma göstererek lümene veya tabana doğru göç eder. Lümene doğru göç ile foveolar ve yüzey epitel hücrelerini, tabana doğru göç ile zimojenik esas, pariyetal ve nöroendokrin hücreleri oluştururlar. İnsanlarda mide epitelinin her 4 ila 8 günde yenildiği tahmin edilmektedir. Pariyetal ve zimojenik hücreler için bu süre bir ile üç yıl arasındadır.

3.4. Endokrin Hücreler

Midenin farklı bölgelerinde hormon üreten birçok farklı hücre tipi vardır. Ant-rumdaki endokrin hücrelerin yarısını, gastrin sentezleyen G hücreleri teşkil eder.

Geriye kalan endokrin hücrelerin çoğu, serotonin üreten enterokromaffin (EC) hücreler ile somatostatin üreten D hücreleridir. Fundik mukozada bulunan endokrin hücrelerinin çoğunluğunu, histamin salgılayan enterokromaffin benzeri (ECL) hücreler oluşturur. Az miktarda EC hücresi ve henüz ne salgıladığı bilinmeyen X hücreleri de izlenir. Fundus mukozasında, endokrin hücreler, mide bezlerinin en alt tabakasına yerleşmişlerdir. Antral mukozada ise, bu hücrelere en sık boyun bölgesinde, foveolaların hemen altında rastlanır. Endokrin hücrelerde hormonlar, çekirdek ile bazal membran arasındaki sitoplazmik granüllerin içinde tutulur. H&E kesitlerde tespiti zor olmakla beraber, özel boyalarla bu granüller görülebilir. Endokrin hücreler tarafından sentezlenen hormonlar kana karışır (hormonal etki) veya çevredeki hücreleri doğrudan etkiler (parakrin etki).

EC hücreleri, ve ECL hücrelerinden bazıları, argentaffin* granüllere sahiptir. Bu granüller, Fontana-Masson veya diyazo teknikleriyle boyanabilir. Diğer hücreler agirofiliktir (gümüşleme) ve Grimelius tekniğiyle boyanabilir. Klasik olarak kullanılan gümüş boyaları, yerlerini daha duyarlı immünolojik tabanlı boyalara (sinaptofizin ve kromogranin) bırakmıştır. Gastrin ve somatostatin gibi hormonların bizzat kendileri de, uygun antikolar aracılığıyla gösterilebilir.

3.5. Lamina propria

Yüzey epitel, foveola ve bezleri oluşturan hücrelerin tamamı, gastrointestinal sistemin diğer organlarında olduğu gibi, bir bazal membran üzerine yerleşmiştir. Mukozanın içinde iyi gelişmiş bir *lamina propria* bulunur. İnce retikülün iplikçiklerinin oluşturduğu, arada kollajen ve elastik lifleri içeren bu yapı, mukozayı destekleyip bir arada tutar. *Lamina propria* en çok mukozanın yüzeyel kısımlarında, foveolaların arasında ve özellikle antral mukozada bulunur. *Lamina propria*'da fibroblastlar, histiyositler, plazma hücreleri ve lenfositler gibi çeşitli hücreler vardır.

* *Argentaffin*: Herhangi bir solüsyondaki gümüş iyonlarını indirgeme özelliğine sahip maddeler içerdiğini gösterir. EC hücrelerindeki serotonin, gümüş iyonunu indirgeyerek, boyama solüsyonunun rengini kahverengiye veya siyaha çevirir.

Nadiren nötrofiller ve mast hücreleri de görülebilir. Miyelinsiz sinir lifleri, arteri-yoller ve kapiller damarlar içerir. Birkaç kas lifi, alttaki *muscularis mucosa*'dan *lamina propria*'ya doğru uzanır. Özellikle distal antrumda, bu lifler mukozanın yüzeyine kadar ulaşabilir.

Midedeki lenfoid doku, ince bağırsaktaki lenfoid doku kadar detaylı ince-lenmemiştir. *Lamina propria*'da rastlanan lenfositlerin çoğu, IgA salgılayan plazma hücreleridir. İntraepitelyal lenfositler midede de bulunabilir, ancak ince bağırsağa kıyasla sayıları çok daha azdır. Kesitlerde bu hücrelerin etrafında, formalin artefak-tına bağlı berrak bir halo gözlenebilir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, mide dokusunda normal olarak primer lenfoid folliküllerin bulunabildiğini göstermiştir. Ancak germinal merkezlerin gö-rüldüğü sekonder lenfoid folliküllerin varlığı, özellikle HP enfeksiyonuna bağlı gelişen gastriti düşündürür.

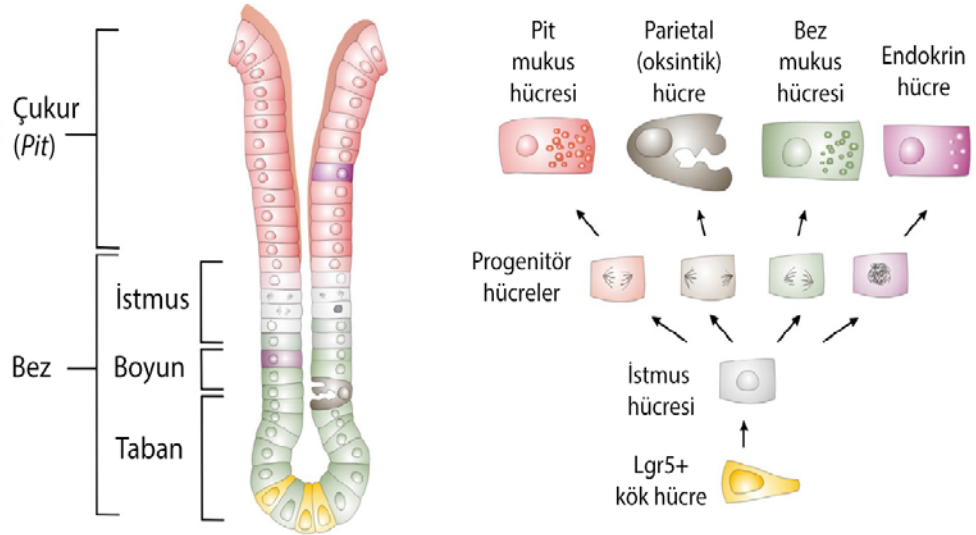
3.6. Submukoza

Muscularis mucosae ve *muscularis propria* arasında bulunan submukoza, makros-kopik yüzey katlantıları olan gastrik ruga'ların merkezini oluşturur. Submukoza esas olarak elastik liflerin meydana getirdiği gevşek bağ dokusudur. Otonom sinir liflerini oluşturan Meissner pleksusu ve venlerin, arterlerin, lenfatik damarların oluşturduğu pleksuslar burada bulunur.

3.7. Kas Yapıları

Muscularis externa olarak da adlandırılan *muscularis propria* üç tabakadan oluşur: en dışta longitudinal, ortada sirküler, ve en içte oblik lifler bulunur. Histolojik ke-sitlerde bu tabakaları birbirinden ayırt etmek güçtür.

Muscularis mukoza ise iki tabakadan oluşur: dışta longitudinal ve içte sir-küler. Özellikle distal antrumda düz kas lifleri mukozanın yüzeyine kadar lümene doğru uzanır.



Şekil 2. Midenin histolojisi²²

4. MİDE KANSERİ – EPİDEMİYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ

4.1. Epidemiyoloji

Mide kanseri, tüm dünyada görülen kanserler arasında sıklık açısından 2000’li yılların başında ikinci sırada yer almasına karşın, insidansında son yıllarda azalma görüldüğü bildirilmektedir. Ancak Çin, Japonya, Güney Amerika, Doğu Avrupa ve Kore’de hala sıktır. Her ne kadar diyet ve beslenmenin mide kanserinde kritik rolleri olduğu kabul edilse de, bu coğrafik farklılığın nedeni hala kesin değildir²³. SEER 2014 verilerine göre, mide kanserinin insidansı ABD’de 7,5/100000, Türkiye’de ise 9,6/100000’dir²⁴.

Mide kanserinin insidansı, coğrafi ve etnik popülasyonlara göre farklılık gösterdiği gibi, aynı popülasyonda zaman içinde de farklılıklar görülebilir. Yüksek insidanslı bir ülkeden, düşük insidanslı bir ülkeye göç eden kişilerde mide kanseri insidansı azalır. Bu ve benzer bulgular; mide kanseri gelişiminde çevresel faktörlerin başlıca rol oynadığını ve bu faktörlere hayatın erken safhalarındaki maruziyetin önemli olduğunu düşündürmektedir.

4.2. Risk Faktörleri

4.2.1. Diyet

Ekolojik, vaka kontrol ve kohort çalışmaları; yüksek miktarda tuz, salamurlu balık, işlenmiş et ve sebzeler gibi tuzlu gıdalar tüketimiyle mide kanseri riskinin arttığını göstermektedir. Yüksek tuz alımının, fare ve sıçanlarda mide mukozasına zarar verdiği, karsinogenez riskini arttırdığı deneysel olarak tespit edilmiştir²⁵. Son 50 yılda buzdolabı kullanımının dünya çapında yaygınlaşması, yiyeceklerin tuzlanarak saklanma mecburiyetini ortadan kaldırdığı için, mide kanseri insidansındaki azalmaya katkıda bulunmuştur.

Nitrozo grubu (-NO) içeren bileşikler, diyet ve sigara ile vücuda alınabildiği gibi, endojen olarak da sentezlenebilir. N-nitrozo bileşikleri, çeşitli sebzelerde ve patatesten doğal olarak bulunan, peynir gibi bazı gıdalara sonradan eklenen nitratlardan sentezlenir. Yiyecekler yoluyla alınan nitratlar, mideden emilir ve salyada yoğunlaştırılmış bir halde salgılanır. Ağız florasındaki bakteriler, nitratları nitritlere indirger. Bu nitrit grupları, amin, amid veya amino asitlerle etkileşerek N-nitrozo gruplarını oluşturur. Mide sıvısındaki nitrit seviyesinin, özellikle nispeten yüksek pH ortamında, ileri evre pre-kanseröz mide lezyonlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir²⁶.

Mide kanseri ile, dışarıdan alınan ve/veya endojen olarak sentezlenen nitrit ve bir N-nitrozo bileşiği olan nitrozometilamin'in ilişkisi, çok merkezli EPIC-EURGAST çalışmasında incelenmiştir. Bu çalışmada kardiya dışı kanserler ve endojen nitrit sentezi arasında ilişki tespit edilmiş (zarar oranı [*hazard ratio*] 1,42); ancak kardiya yerleşimli kanserler ile nitrit maruziyeti arasında bir ilişki saptanamamıştır²⁷. Nitritten zengin işlenmiş et tüketimi ile mide kanseri arasındaki riski inceleyen bir meta-analiz, günlük ortalama 30 gram işlenmiş et tüketiminin, mide kanseri riskini arttırdığını göstermiştir²⁸.

Farklı ülkelerde yapılan vaka kontrol çalışmaları, sebze ve özellikle meyve tüketiminin, mide kanserinden koruyucu etkiye sahip olduğunu belirlemiştir²⁹. Bu çalışmalara göre, meyve tüketimi en fazla olan grubun riski, en az olan gruba göre yaklaşık %40 daha azdır. Aynı oran sebze tüketimi için % 30'dur³⁰. Kohort çalışmalarında elde edilen veriler çelişkilidir. On yedi kohort çalışmasını derleyen bir meta-analiz, meyve tüketimiyle hafif bir risk azalması olduğunu (risk oranı 0,9); sebze tüketiminde ise riskin değişmediğini göstermiştir.³¹ Sebze ve meyvelerin mide kanseri gelişim riskini azaltması, bu gıdalarda bulunan vitamin C'nin, N-nitrozo bileşiklerinin oluşumunu engellemesine bağlanmaktadır.

Diyetteki fiberin de mide kanseri riskini azalttığı düşünülmektedir. Bir meta-analizde, yüksek fiber tüketiminin düşük fiber tüketimine göre, intestinal ve diffüz tipte mide kanseri gelişim riskini azalttığı gösterilmiştir³². Bu meta-analizin aksine, prospektif EPIC-EURGAST çalışmasının sonuçları, yalnız tahıllardan edinilen fiberin mide kanser riskini azalttığını, diğer fiber türlerinin etkisinin olmadığını göstermektedir. Tahıllardan edinilen fiberin diffüz tip mide kanseri gelişim riskini azalttığı, ancak intestinal tip mide kanseri gelişim riskini değiştirmediği görülmüştür²⁷.

4.2.2. *Helicobacter pylori*

Dünya Sağlık Örgütü, *Helicobacter. pylori*'yi mutlak risk kategorisi olan, Kategori I karsinojen olarak sınıflandırmaktadır. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda, mide karsinomu insidansı ile *H. pylori* seropozitifliği arasında kuvvetli bir bağ olduğu gösterilmiştir³³.

H. pylori ilk kez 1984'te Marshall ve Warren tarafından gösterilmiş olup dört tane virulans faktörü tanımlanmıştır. 1) CagA(sitokin assosiyasyon antijen) 2) CagPAI (cag ilişkili patojen adacık) 3) VacA (vakuollü sitotoksin) 4)OMP (dış membran proteini). CagA majör virulans faktörü olarak tanımlanmıştır ve mide kanseri gelişimi ile ilişkili bulunmuştur³⁴.

H. pylori basiline farklı coğrafi tipleri ve virülans faktörleri ile mide karsinom gelişimi arasında bir bağ vardır. Çoklu lokus dizilim analizi (*multilocus sequence typing*, MLST) yöntemiyle, birçok *H. pylori* alt grubu tespit edilmiştir. Bu gruplar arasında Avrupa, Kuzey ve Batı Afrika, Güney Amerika, Asya (Hindistan, Bangladeş, Tayland, Malezya), Avustralya, ve Uzak Doğu grupları vardır. Afrika grubundaki *H. pylori* enfeksiyonlarında, Avrupa grubundaki enfeksiyonlara kıyasla, histopatolojik lezyonlar daha hafiftir ve DNA hasarı daha nadir görülür. Bu

durum, *H. pylori* prevalansının çok yüksek olduğu Afrika ülkelerinde neden gastrik adenokarsinom sıklığının çok az olduğunu açıklamaya yardımcıdır.

Hangi moleküler mekanizmaların karsinom gelişimini tetikleyip sürdürdüğü konusu hala tam net değildir³³. *H. pylori* enfeksiyonunun hangi yolla kanser gelişimi sürecini tetiklediği hakkında çeşitli görüşler vardır. Bir hipoteze göre, *H. pylori* enfeksiyonunun sonucu olarak gelişen inflamatuvar yanıtta, tetiklenen tipteki nitrik oksit sentaz enziminin (*inducible nitric oxide synthase*, iNOS) artmış ekspresyonu, mukozadaki oksidatif stresi artırır. Nitrik oksit ve türevleri mutajenik moleküller olup, epitel hücrelerinde DNA hasarı ve DNA bozukluklarına yol açarlar. Hem displastik hücrelerin, hem de karsinom hücrelerin sitoplazmalarında, artmış iNOS ekspresyonu tespit edilmiştir³⁵.

H. pylori enfeksiyonunun, mide mukozasında inflamasyonu tetiklediği ve sırasıyla atrofi, metaplaziye, displazi ve sonrasında da invaziv kansere yol açtığı düşünülmektedir. Enfeksiyon erken çocukluk devresinde başlasa da, kanser gelişimi 40 yıl veya daha fazla zaman alır.

5. MİDE KANSERİ – PATOGENEZ

Mide karsinomlarının epidemiyolojik, etyolojik, genetik ve morfolojik özellikleri bakımından birbirinden farklı; intestinal ve diffüz olmak üzere iki ana alt grubu vardır. Morfolojik farklılıkların altında, adhezyon moleküllerinin durumu yatmaktadır. İntestinal tipte, adhezyon molekülleri korunmuştur. Bu sebeple, tümör hücreleri birbirlerine tutunarak, bez veya tübül yapıları oluştururlar. Bu morfoloji, gastrointestinal sistemin diğer yerlerindeki adenokarsinoma benzediği için, bu alt tip “intestinal” olarak adlandırılmıştır. Diffüz tipte ise, adhezyon moleküllerinin yapı ve işlevlerinde bozukluklar vardır. Bu sebeple tümör hücreleri bez veya tübül yapıları oluşturmadan çevre dokulara yayılır.

Klasik diffüz alt tipteki ana karsinojenik mekanizma, E-cadherin proteini- nin kaybıdır. Bu protein bir yüzey yapışma (*adhezyon*) proteini olup, epitel hücreleri arasındaki bağları kurarak, dokunun mikromimari özelliklerinin (bez veya tübül yapıları gibi) devamlılığını sağlar. E-cadherin'i kodlayan *CDH1* geninin her iki allelinin inaktivasyonu, germ hücrelerinde veya somatik hücrelerdeki mutasyonlara, allelik düzensizliklere (heterozigosite kaybı) veya *CDH1* geni promoter bölgesinin anormal metilasyonu gibi epigenetik değişikliklere bağlı olabilir³⁶.

İntestinal tip mide kanserlerinin aksine diffüz tip karsinomların tanımlanmış bir öncül lezyonu bulunmamaktadır. Preneoplastik basamaklar diffüz tipte görülmez. Ailevi tip diffüz mide kanserinde HP'nin etkisi olmamasına karşın, sporadik olgularda etkisi olabileceğinden bahsedilmektedir. Ancak HP'nin hangi mekanizma ile etki ettiği bilinmemektedir³⁶.

İntestinal alt tip daha çok sporadiktir. Yüksek riskli popülasyonlarda en sık görülen alt tip olmakla birlikte, uzun yıllardır prevalansı azalmaktadır. Diyet, sigara ve alkol gibi etyolojik faktörlere bağlıdır. Erkek cinsiyette daha sık görülmektedir. İntestinal tip mide kanseri *H. pylori* ile ilişkili olup karsinoma ilerleyen süreçte birbirini takip eden preneoplastik basamaklar vardır. Her ne kadar başlangıçtaki

HP gastritinden invaziv kansere doğru ilerleyen düzenli bir süreç varsa da, daha erken basamaklara regresyon da mümkündür³⁵.

Diffüz tipte mide kanseri daha genç yaşta görülür ve her iki cinsi eşit oranda etkiler. Diffüz tip mide kanserleri, intestinal tipe kıyasla, daha agresiftir ve daha sık metastaz yaparlar. İntestinal tip mide kanserlerinin aksine, diffüz tip karsinomların tanımlanmış bir öncül lezyonu bulunmamaktadır. Preneoplastik basamaklar diffüz tipte görülmez. Ailevi tip diffüz mide kanserinde HP'nin etkisi olmamasına karşın, sporadik olgularda etkisi olabileceğinden bahsedilmektedir. Ancak HP'nin hangi mekanizma ile etki ettiği bilinmemektedir^{37,38}.

5.1. Karsinogenez Sürecinde Preneoplastik Lezyonlar

Midede karsinogenez süreci ilk kez 1998'de tanımlanmıştır. Bu süreç "Correa yolu" olarak da bilinir⁴. Mide karsinogenezi sürecinde görülen lezyonlar sırasıyla şunlardır: (1) Kronik aktif non-atrofik gastrit, (2) Multifokal atrofik gastrit, (3) Komplet intestinal metaplazi, (4) İnkomples intestinal metaplazi, (5) Displazi, (6) İnvaziv karsinom

İlk basamak olan **kronik aktif non-atrofik gastrit**, özellikle antrumda görülür ve lamina propriada lenfosit, makrofaj ve plazma hücre infiltrasyonu izlenir. Bazı hastalarda, aktif gastrit sonrası atrofi gelişmez. Non-aktif non-atrofik antral gastrit, özellikle duodenal *H. pylori* enfeksiyonu ve peptik ülserin olduğu hastalarda görülür. Bu hastalarda, genel popülasyona kıyasla, gastrik kanser gelişme riski artmaz.

Atrofik gastrit, gastrik bezlerin multifokal kaybıyla karakterizedir. Atrofiye uğrayan kısım, antrumdaki mukus salgılayan bezler ve korpustaki pariyetal ve esas (*chief*) hücrelerdir. Ancak bazı hastalarda, aktif gastrit sonucu atrofik gastrit gelişmez. Bu non-aktif non-atrofik antral gastrit, özellikle duodenal *H. pylori* enfeksiyonu ve peptik ülserin olduğu hastalarda görülür. Bu hastalarda, genel popülasyo-

na kıyasla, gastrik kanser gelişme riski artmaz. Bu sebeple, atrofi, yani gastrik bezlerin kaybı, preneoplastik sürecin ilk histopatolojik lezyonu olarak kabul edilir.

Atrofik gastrit, gastrik bezlerin multifokal kaybıyla karakterizedir. Atrofiye uğrayan kısım, antrumdaki mukus salgılayan bezler ve/veya korpustaki pariyetal ve esas (*chief*) hücrelerdir. Atrofi, yani gastrik bezlerin kaybı, preneoplastik sürecin ilk histopatolojik lezyonu olarak kabul edilir.

Bezlerin atrofiye uğramasını takiben, mide epitelinde yeni bez yapıları görülmeye başlayabilir. Bu bezler, bağırsaktaki bezlere benzer yapıda olduklarından, bu durum **intestinal metaplazi** olarak adlandırılır. İntestinal metaplazi, öncelikle antrum ile korpusun bileşkesinde, özellikle de *incisura angularis* bölgesindeki mukozada görülür. Zamanla metaplazi görülen alanların sayısı artar, ve bu alanlar korpus ile antruma doğru genişler. Metaplastik alan ne kadar büyürse, kanser gelişme riski o kadar artar. Normal bezler atrofiye uğrayıp yerlerini metaplastik bezler alınca, normal gastrik sekresyonlar azalır. Bu durum hipoklorhidriye, korpustaki esas hücreler tarafından salgılanan pepsinojen I ile antrumdaki G hücrelerinin salgıladığı gastrin seviyelerinde değişikliğe sebep olur. Bu işaretçiler serumda tespit edilebilir ve bu yolla gastrik atrofinin varlığı ve gastrik kanser gelişme riski gösterilebilir.

Gastrik mukozada ilk görülen metaplastik bezler, görünüm itibariyle ince bağırsakta görülen bezlere benzerler. Bu bezler, çok sayıda mikrovilli'nin oluşturduğu lüminal yüzeye sahip (*brush border*) eozinofilik enterositler ve bu hücrelerin arasına serpilmiş, mukus üreten goblet hücrelerinden oluşur. Bu tip metaplazi, **tip I; komplet**, veya **ince bağırsak tipi metaplazi** olarak adlandırılır. Preneoplastik süreç ilerledikçe, gastrik mukozadaki bezlerin fenotipi, ince bağırsaktan kolona doğru değişim gösterir. Bu bezlerde, düzensiz (*irregular*) goblet hücreleri bulunur. Diğer isimleri **tip III; inkomplet**, veya **kolonik metaplazi** olan bu tip metaplazi, erken evre gastrik karsinom lezyonlarının etrafında sıklıkla görülür.

Tip II intestinal metaplazi ise bu gastrik ve intestinal msinleri mikst olarak içeren inkomplet bir intestinal metaplazi formudur. Tip I intestinal metaplazide sialomsin, tip III te ise sulfomsin bulunur^{39,40}.

Metaplazinin başka bir formu olan spasmolilik peptit ekspre eden metaplazide (**SPEM**) oksintik atrofi ve eşlik eden psödopilorik metaplazi vardır. SPEM karakteristik olarak korpus ve fundusta gelişir ve TFF2 (*TreFoil Factor 2*) ekspresyonu artar. SPEM gelişimi HP gastriti ile yakından ilişkili olup gastrik adenokarsinoma ilerleyen yeni bir neoplastik yolak olarak tanımlanmıřtır⁴¹.

Metaplazilerin içinde yer alan komplet ve inkomplet intestinal metaplazi bazı otörler tarafından sıradan intestinal metaplazi (**UIM**) olarak isimlendirilmektedir ve displazi açısından negatif kabul edilir. Hiperproliferatif tip intestinal metaplazi (**HIM**) ise displazi açısından belirsiz gruba dahil edilir. HIM de UIM ye göre hüresel düzeyde daha fazla proliferasyon ancak daha az diferansiyasyon vardır⁴².

“İntraepitelyal neoplazi” olarak da adlandırılan **displazide**, büyük boyutlu, hiperkromatik, ve düzensiz çekirdekli hücreler görülür. Displazi tanısında, tanımlanan sitolojik değişikliklerin foveola yüzeyine kadar devam etme (yüzey matürasyonunda kaybı) şartı aranır. Displazi, nükleer atipi ve mikromimarideki düzensizliğin derecesine göre, düşük ve yüksek dereceli displazi (*low grade* ve *high grade*) olarak sınıflandırılır. Düşük dereceli displazinden karsinoma ilerleme olasılığı %0-23 iken, yüksek dereceli displazi için bu oran %60-85’tir.

Düşük dereceli displazide arkitektrel olarak minimal düzensizlik sitolojik olarak ise hafif-orta derecede atipi mevcuttur. Nukleuslar uzamış olup polarite korunmuştur. Düşük dereceli displazi ile reaktif atipi ayırımı küçük biyopsilerde veya oryantasyon sorunu olduğu zaman zorlayıcı olabilir. Kimyasal gastropati veya ülsere sekonder iyileşme sürecinde görülen reaktif sitolojik atipi, müsin depleasyonu, nükleer hiperkromazi ve artmış proliferatif aktivite displaziye taklit edebilir.

Ayrırcı tanıda reaktif değişiklikler yönünde düşündüren ipuçları; nükleuslarda sıralanma artışı olmaması ve çevre normal mokoza ile ani olmayan, göreceli geçiştir. Düşük dereceli displazi/reaktif ayrımında p53 immunhistokimyası bazen yardımcı olabilir. Ancak p53 pozitifliğinin displazilerin sadece üçte birinde mevcut olduğunu akılda tutmak gereklidir⁴³.

Yüksek dereceli displazide ise neoplastik hücreler daha ziyade kübik morfolojide olup, nükleositoplazmik oran artmıştır. Nükleol belirginliği vardır, sıralanma artışı mevcut olup polarite kaybı oluşur. Arkitektürel olarak düzensizlik belirgin hale gelir⁴⁴.

Intramukozal adenokarsinom yüksek dereceli displazinin bir basamak ilerisinde yer alır. Bezlerde kalabalıklaşma, çok sayıda dallanma ve tomurcuklanma izlenir. Hücresel düzeyde nükleus sitoplazma oranı artmış, polarizasyon kaybı belirginleşmiştir. Çok sayıda mitoz izlenebilir. Yüksek dereceli displazide, desmoplazi izlenmez, ancak intramukozal adenokarsinomda minimal desmoplastik yanıt gözlenebilir. Ancak intramukozal adenokarsinom tanısında daha güvenilir olan morfolojik bulgu, lamina propriayı invaze eden, tek tek veya küçük gruplar halindeki neoplastik hücrelerin varlığıdır³⁹.

Yukarıda bahsedilen preneoplastik sürecin gelişimi, kolorektal kanser için tanımlanan adenom-karsinom gelişimi modeli ile benzerdir. Vogelstein'in 1990 yılında ortaya koyduğu bu modele göre⁴⁵, birbirini sırasıyla takip eden belirli genetik ve epigenetik bozukluklar, aşamalı olarak adenoma ve kolorektal karsinoma yol açmaktadır. Buna göre, histopatolojik olarak tanımlanmış lezyonlara belirli moleküler değişikliklerin eşlik ettiği ve bunların kademeli olarak mukozada birikerek mide karsinogenezine yol açtığı düşünülmektedir.

Gastrik intraepitelyal lezyonlara yaklaşım Japonya'da ve Batı ülkelerinde farklılık göstermektedir. Japonlarda şiddetli nükleer ve arkitektürel bozukluklar bir lezyonda kanser tanısı için yeterli iken, batıda kanser tanısı için stromal invazyon

şartı aranır. Batı ülkelerinde kullanılmayan “adenom” terimi de Japon sınıflamasında düşük dereceli intraepitelyal lezyonları tanımlamaktadır. 2000 yılında yayınlanan **Padova sınıflaması** doğu ve batı arasındaki bu yaklaşım farklılıklarını bir noktada birleştirmeyi amaçlamıştır⁴⁶. (Tablo 1).

Padova sınıflamasına göre gastrik epitelyal lezyonlar beş kategoride incelenir. Bu kategoriler sırası ile:1)Displazi açısından negatif, 2)Displazi açısından belirsiz, 3)İnvaziv olmayan neoplazi, 4)İnvaziv karsinom açısından şüpheli ve 5)İnvaziv adenokarsinom’dur

Tablo 1. Padova sınıflaması⁴⁶

1. Displazi yok
1.0. Normal
1.1. Reaktif foveolar hiperplazi
1.2. İntestinal metaplazi (İM)
1.2.1. Tam (<i>Complete</i>)
1.2.2. Eksik (<i>Incomplete</i>)
2. Displazi açısından şüpheli
2.1. Foveolar hiperproliferasyon
2.2. Hiperproliferatif intestinal metaplazi
3. Non-invazif neoplazi [=adenom]
3.1. Düşük dereceli
3.2. Yüksek dereceli
3.2.1. Non invaziv karsinom açısından şüpheli (<i>Suspicious for carcinoma without invasion</i>)
3.2.2. Non invaziv karsinom
4. İnvaziv karsinom açısından şüpheli
5. İnvaziv adenokarsinom

5.2. Moleküler Patogenez

Mide kanseri üzerine yapılan gen ekspresyon çalışmaları sonucunda, moleküler farklılıklara dayanarak; mide adenokarsinomları, intestinal (G-INT) ve diffüz (G-DIF) olarak iki gruba ayrılmıştır. Bu moleküler sınıflama, klasik intesti-

nal ve diffüz morfolojik tiplerle kısmen uyumludur. Histopatolojik ve moleküler sınıflandırmalar arasındaki uyumun (*konkordans*) %64 olduğu belirtilmiştir. Prognostik özellikler açısından, moleküler sınıflamanın klasik histopatolojik sınıflamaya göre daha üstün olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Yine bu çalışmalara göre, G-INT alt tipinin sağkalımı, G-DIF'e göre çok daha iyidir⁴⁷. Moleküler sınıflamanın "mikst" veya "sınıflandırılmayan" gibi belirsiz terimlerden kaçınmış olması üstünlüğüdür. Moleküler sınıflama tedaviyi yönlendiricidir. G-INT tümörler 5-florourasil (5-FU) ve oksaplatin'e, G-DIF tümörler ise sisplatin'e daha duyarlıdır⁴⁸.

İntestinal tip mide karsinomunda moleküler mekanizmalar karmaşıktır ve henüz netlik kazanmamıştır. Diffüz tip mide karsinomlarında ise tanımlanmış belirgin bir moleküler bozukluk vardır. Bu da, hücrelerin bir arada tutunmasını ortadan kaldıran E-kadherin ekspresyon kaybıdır. 16'ncı kromozomun uzun kolu-ndaki *CDH1* geni tarafından kodlanan E-kadherin, bir transmembran hücre adhezyon, yani tutunma proteindir. E-kadherinin sitoplazmik ucu, β -katenine bağlıdır. E-kadherin ekspresyonunun azalması, β -kateninin serbest kalarak hücre çekirdeğine geçmesine, ve sonuçta hücre proliferasyonuna yol açar⁴⁹.

1998 yılında *Nature* dergisinde yayınlanan bir makalede, ilk kez 1964 yılında Yeni Zellanda yerlilerinden (Maori) üç ailede tanımlanan ailesel mide kanserinin, bir ailede 30 yıl zarfında 25 kişinin ölümüne neden olduğu bildirilmiştir⁵⁰. Aile üyelerindeki *CDH1* geninin 7'inci ekzon bölgesindeki G→T mutasyonunun, bu genin ürünü olan E-kadherin protein kısalmasına (*truncated*) sebep olduğu, ve kısalmış E-kadherin proteininin işlevini yitirdiği gösterilmiştir⁵⁰. Daha sonra yapılan çalışmalar, Avrupa, Asya ve Amerika'daki ailevi mide kanseri vakalarında da benzer mutasyonlar olduğunu ortaya koymuştur⁵¹⁻⁵³. Germ hücrelerindeki mutasyondan sonra, ikinci E-kadherin geninin inaktivasyonundan promoter bölgesi hipermetilasyonu, çeşitli mutasyonlar ve heterozigosite kaybı gibi farklı mekanizmalar sorumludur⁵¹.

CDH1 mutasyonu ile karakterize ailesel mide kanseri sendromu, otozomal dominant geçişlidir ve erken yaşta görülen mide kanserlerinin çoğundan sorumludur. Ailesel mide karsinomunun görüldüğü ailelerde, 80 yaşına kadar birikmiş mide kanseri gelişim riski, erkek ve kadın tüm bireyler için %80'in üzerindedir⁵⁴. Erken yaşta mide kanseri gelişen vakalarda, genellikle multifokal yayılım ve sağlam mukoza altına yerleşim gözlenir⁵⁵. Bu tümörlerin erken evrede tanısının güç ve prognozunun kötü olması nedeniyle, profilaktik total gastrektomi veya midenin proksimal 1/3'ünü hedef alan yakın endoskopik takip, bu hastalar için önerilen aklaşımlardır⁵⁶.

Sporadik diffüz mide karsinomlarında ise E-kadherin ekspresyonunda azalma görülür. Sporadik mide karsinomlarının %40-83'ünde, *CDH1* mutasyonları ve promoter hipermetilasyonu bulunur^{36,49,57}. Bu karsinomların çevresindeki normal morfolojiye sahip mukozada, yüksek oranda *CDH1* promoter hipermetilasyonu görülür⁵⁸. 2013 yılında Corso ve arkadaşlarının yaptığı ve 174 sporadik ve 19 ailevi mide kanserinin moleküler özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, sporadik diffüz tip karsinomların %34'ü ve intestinal tip karsinomların %26'sında E-kadherin ekspresyonunda azalma görülmüştür. Bu çalışmadaki ailevi mide karsinomu vakalarının hiçbirinde *CDH1* mutasyonu bulunamamış, ancak %53'ünde promoter hipermetilasyonu tespit edilmiştir⁵⁹.

Bütün bu veriler ışığında, *CDH1* geni bir tümör süpressör gen olup, mutasyonu klasik "iki vuruş" hipoteziyle (*two hit hypothesis*) uyumludur. Birinci allel kaybı, genellikle somatik veya germ hücre mutasyonu veya heterozigosite kaybı gibi yapısal bir bozukluktan kaynaklanmakta; ikinci allel kaybı ise, sıklıkla *CDH1* promoter hipermetilasyonu gibi epigenetik değişiklikler sonucu oluşmaktadır^{60,61}.

CDH1 dışında, *PSCA* (*prostate stem cell antigen*)⁶² ve *MUC1*⁶³ genlerindeki mutasyonlar da, diffüz mide kanseriyle ilişkilidir.

5.2.1. Onkogenler

Mide karsinomu gelişimdeki değişik safhalarda çeşitli onkogenlerin rolü olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, belirli bir histopatolojik lezyonla doğrudan ilişkili bir onkogen henüz tespit edilememiştir. Mide karsinomu ile ilişkili onkogenler arasında başlıca *K-ras* ve *C-met* yer almaktadır.

K-ras geninin 12 ve 13'üncü kodonlarının mutasyonları, gastrik adenokarsinomların %8⁶⁴ ile %48'inde⁶⁵ görülmektedir. *K-ras* mutasyonları, mikrosatellit instabilitesinin olduğu mide karsinomlarında daha sık görülür⁶⁵.

C-met geni, hepatosit büyüme faktör reseptörünü kodlayan bir genidir. Bu genin mide karsinomundaki mutasyonlarının sıklığı, literatürde %25⁶⁶ ila %59⁶⁷ arasında bildirilmiştir. *C-met* mutasyonları diffüz tipte daha sık görülmekte olup⁶⁸, diğer patolojik değişkenlerden bağımsız olarak kötü prognozla ilişkili bulunmuştur⁶⁷. *In vitro* çalışmalarda, bazı *H. pylori* suşlarının, CagA proteini yoluyla, *C-met* reseptör sinyal iletim yollarını etkilediği gösterilmiştir⁶⁹.

Mide karsinomu tedavisinde, bu molekülü hedef alan tivantinib gibi reseptör tirozin kinaz inhibitörlerinin yeri, son yıllarda artan bir sıklıkla araştırılmaktadır⁷⁰.

5.2.2. Tümör süpresör genler

İntestinal tip mide karsinomlarının yaklaşık yarısında, tümör süpresör genlerin bozukluğu görülür. Bu genler arasında *TP53*, *TP73*, *APC* (adenomatöz polipozis koli), *TFF* (*trefoil factor family*), *DCC* (*deleted in colon cancer*), ve *FHIT* (*fragile histidine triad*) vardır.

TP53 geninin kodladığı p53 proteini, hücre döngüsünün en önemli düzenleyicilerinden biridir. Bu proteinin aracılığıyla, hasarlı hücrenin bölünmesi durdurulur; hasarın derecesine göre, DNA tamiri veya apoptoz mekanizmaları devreye girer. *TP53* ekspresyonunun, heterozigosite kaybı veya mutasyona bağlı inaktivas-

yonu sonucunda azalması, invaziv mide karsinomlarının %60'tan fazlasında görülür. *TP53* bozuklukları, atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve displazide de görülebilir. *H. pylori* enfeksiyonu ile p53 proteini arasındaki ilişki net değildir. *H. pylori* enfeksiyonunda görülen kronik inflamasyon, ve buna eşlik eden inflamatuvar stresle ilişkili olduğu düşünülmektedir⁷¹

TP73 geni, *TP53* benzeri bir gen olup, bir transkripsiyon faktörü olan p73 proteinini kodlar. Mide karsinomlarında bu genin lokusunda heterozigosite kaybı ve buna bağlı olarak p73 inaktivasyonu bildirilmiştir. EBV ile ilişkili mide karsinomlarında, *TP73* geni promoter bölgesinin metilasyonu sebebiyle, bu genin epigenetik inaktivasyonu görülür. *TP73*'ün onkogenik izoformu olan $\Delta Np73$ 'ün transkripsiyon bölgesi olmayıp, fizyolojik p73'ün transkripsiyonudaki rolünü ve sonuçta apoptozu baskılar. $\Delta Np73$ 'ün ayrıca β -katenin aktivitesini arttırdığı ve bu artışın normal p53 proteini tarafından baskılandığı, ancak mutant p53 tarafından baskılanmadığı gözlemlenmiştir^{72,73}.

İntestinal metaplazide, displazide ve aşikar mide karsinomunda *APC* mutasyonları olduğu gösterilmiştir. Bu mutasyonlar, diffüz tipe kıyasla, intestinal tipe çok daha sık görülür. *APC* proteini, Wnt/ β -katenin sinyal iletim yolunda görev alır.

TFF geninin kodladığı proteinler, gastrik epitelin korunmasında görev alırlar. *TFF1* proteini, fizyolojik olarak gastroduodenal mukozada bulunur. *TFF1* geninin iptal edildiği (*knock-out*) farelerde, çok sayıda gastrik adenom ve karsinom geliştiği gözlenmiştir. İnkomplet intestinal metaplazi ve adenokarsinomda da *TFF1* ekspresyonunun kaybını gösteren çalışmalar mevcuttur⁷⁴⁻⁷⁶.

Hücre döngüsünü düzenleyen proteinlerden olan siklin E ve siklin bağımlı kinaz inhibitörü 1B (*cyclin-dependent kinase inhibitor*, CDKN);diğer ismiyle p27, G_1 safhasından S safhasına geçişi kontrol ederler. Aşırı siklin E ekspresyonu, mide karsinomlarında sıklıkla görülür. Bu proteinin, displaziden adenokarsinom gelişiminde ve aşikar adenokarsinomlarda tümörün daha agresif oluşunda rol oynadığı

düşünülmektedir. *CDKN1B* geninin iptal edildiği ve *H. pylori* bulaştırılmış farelerde, mide karsinomunun gelişme sıklığının arttığı; azalmış *CDKN1B* ekspresyonunun, invaziv gastrik karsinomda kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir⁷⁷.

5.2.3. Epigenetik bozukluklar

İntestinal tip mide karsinomlarında, çeşitli genlerin promoter bölgelerinin metilasyonu ile karakterize epigenetik bozukluklar görülebilir. Promoter bölgelerin bu anormal hipermetilasyonu, *H. pylori* enfeksiyonu ile yakından ilişkilidir. Artmış metilasyon oranının, invaziv kanser gelişimi riskini attırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. *H. pylori* eradikasyonu ile, promoter hipermetilasyonu ve invaziv kanser gelişme riski azalır.⁷⁸

Anormal metilasyon doğal yaşlanma sürecinin bir parçasıdır⁷⁹, ve kronik enfeksiyon gibi kanser dışı hastalıklarda da görülür⁸⁰. Hipermetilasyon birden çok kanserin geliştiği hastalarda daha sıktır. Bu sebeplerden ötürü, anormal metilasyonun akciğer karsinomlarındaki metaplastik değişiklikler gibi⁸¹ bir “alan bozukluğu” (*field defect*) olduğu düşünülmektedir⁸².

5.2.4. β -katenin/Wnt sinyal iletim yolu

β -katenin, embriyolojik dönemde morfogenezi düzeleyen mekanizmalardan biri olan Wnt sinyal iletim yolunun önemli parçalarından biridir. Normal mukozada β -katenin, içinde APC proteininin de bulunduğu bir komplekse bağlı olarak inaktif halde bulunur. Wnt sinyal iletim yolu inaktif olduğu müddetçe bu durum devam eder. Wnt ligandı, Frizzled olarak adlandırılan reseptörüne bağlandığı zaman, APC-protein kompleksi inhibe olur. β -katenin sitoplazmadaki bu kompleksten ayrılarak, çekirdeğe doğru hareket eder. Burada TCF adlı bir transkripsiyon faktörü ile bir kompleks oluşturarak, *C-MYC* ve *cyclin D1* gibi hücre proliferasyonundan sorumlu genlerin ekspresyonunu artırır. Bu sebeple, *APC* gen mutasyonu nedeniyle işlevsiz hale geldiği neoplastik hücrelerde, sanki daimi bir Wnt aktivas-

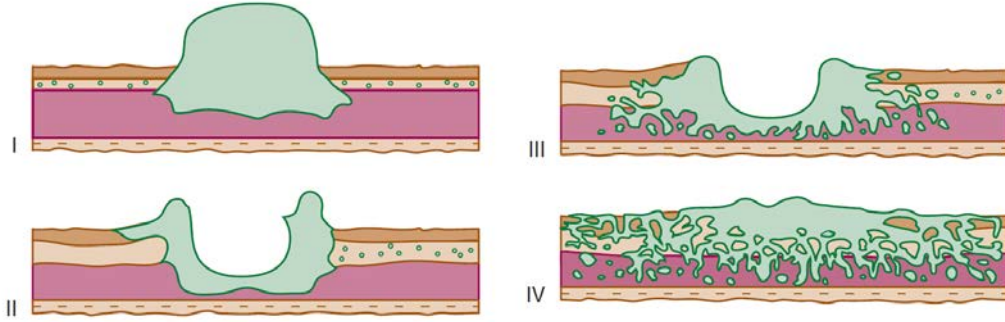
yonu varmış gibi, β -katenin sürekli hücre çekirdeğinde bulunur ve hücre proliferasyonunu devam ettirir. APC/ β -katenin mutasyonları başta kolorektal kanserlerde olmak üzere, hepatoblastomlarda ve hepatosellüler karsinomlarda görülür⁸³.

β -kateninin, Wnt sinyal iletim yolu ile kontrolünden başka, hücrelerin birbirine tutunup bir arada durmasını sağlayan E-kadherin proteiniyle oluşturduğu ayrı bir yolak vardır. E-kadherin, hücrelerin birbirine yapışıp bir arada tutunmalarını (*intercellular adhesiveness*) sağlayan bir protein olup, β -katenin E-kadherinin sitoplazmik ucuna tutunur. Yaralanma gibi, hücrelerin birbirlerine tutunmalarının kaybolduğu hallerde, β -katenin ile E-kadherin arasındaki bağ kopar ve serbest haldeki β -katenin hücre çekirdeğine giderek hücre proliferasyonunu tetikler. Doku tamiriyle birlikte, hücreler tekrar birbirlerine temas etmeye başlarlar. E-kadherin aracılığıyla olan bu temas, β -kateninin serbest halden E-kadherine bağlı hale geçmesine sebep olur; bu da β -kateninin tetiklediği hücre proliferasyonunu baskılar. Bu duruma “temas engellemesi” (*contact inhibition*) denir. E-kadherin/ β -katenin eksenindeki mutasyonlar, çeşitli karsinomların karakteristik özelliğidir. E-kadherin kaybı, tümör hücrelerinin birbirine tutunmasını azaltarak, kopan hücrelerin lokal invazyon veya uzak metastaz yapmasıyla, tümörün benign fenotipten malign fenotipe geçmesine sebep olabilir. Özofagus, kolon, meme, over ve prostat karsinomlarında, E-kadherin kaybı görülür. Germ hücrelerdeki E-kadherin mutasyonları ise, ailevi mide kanserlerine yol açtığı gibi, diffüz tipteki sporadik mide kanserleri için de E-kadherin ekspresyonunun kaybı tipiktir. Bu tip kanserlerdeki E-kadherin ekspresyonunun azalması, doğrudan E-kadherin geninin (*CDH1*) mutasyonu sebebiyle olabileceği gibi, β -katenin genindeki mutasyonlar ve SNAIL gibi transkripsiyonu baskılayan genlerdeki mutasyonlar sebebiyle de olabilir. Özellikle SNAIL mutasyonlarının epitelyal-mezenkimal dönüşümden sorumlu olduğu düşünülmektedir⁸⁴.

6. MİDE KANSERİ – MAKROSKOPİK YAKLAŞIM

Mide kanserlerine makroskopik yaklaşımda, prognostik öneminden dolayı günümüzde eski bir sınıflandırma olan Borrmann sınıflaması hala kullanılmaktadır³⁹. Özellikle tip IV'ün (diffüz infiltratif) azalmış sağkalım ilişkisi bilinmektedir⁸⁵.

Borrmann sınıflamasına göre dört tip mevcuttur (Şekil 3):



Şekil 3. Borrmann makroskopik sınıflama³⁹.

- I. Polipoid
- II. Mantar gibi büyüyen (*fungating*)
- III. Ülsere,
- IV. Diffüz infiltratif (*linitis plastica*).

Birinci tip olan polipoid, lümeneye doğru büyüyen ve sapı olan tiptir. *Fungating* tipte, kenarlar yüzeyden hafif kabarık ve mantara benzer şekilde büyümüş olup, tümörün ortası çöküktür. Ülsere tipin farkı, tümörün kenarlarının sağlam mukoza ile aynı seviyede olmasıdır. Tümörün merkezi yine çöküktür. Dördüncü tip *linitis plastica* (matara mide) olarak da adlandırılır. Mide mukozasının tamamı veya neredeyse tamamı, tümör hücreleri tarafından infiltre olmuştur. Bu sebeple, makroskopik olarak mukozal kıvrımlar düzleştiği görülür.

7. MİDE KANSERİ – MİKROSKOPİK YAKLAŞIM

Mide kanseri, hem farklı bireylerin tümör dokularında, hem de aynı tümör dokusunun içinde heterojenite gösterir. Hücresel olarak, neoplastik hücreler gastrik foveoler epitel, intestinal epitel ve/veya endokrin hücrelere benzerlik gösterir. Genel olarak gastrik veya intestinal tipte bez yapıları oluştururlar.

Mide adenokarsinomlarında farklı sınıflamalar önerilmiştir. Bunlar arasında belli başlı olanları Laurén ve WHO sınıflamalarıdır (Tablo 2).

7.1. WHO Sınıflaması

WHO sınıflamasında dört ana alt tip mevcuttur: (1) Adenokarsinom, (2) Skuamöz hücreli karsinom, (3) Adenoskuamöz karsinom, (4) Küçük hücreli karsinom, (5) Diğer

7.1.1. Adenokarsinom sınıflaması

WHO sınıflamasına göre adenokarsinomun; tübüler, papiller, müsinöz, taşlı yüzük hücre komponenti içerebilen zayıf kohesiv ve mikst alt tipleri vardır⁸⁶.

Papiller adenokarsinomda fibrovasküler bir merkezi çevreleyen tümör hücreleri, lümene doğru parmaklı uzantılar yaparlar. Bu tip, tüm mide kanserlerinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Daha çok yaşlı hastalarda görülmekte olup yerleşimi genellikle proksimaldir. Yapılan çalışmalarda, papiller tipin, diğer tiplere oranla, daha sık lenf nodu metastazı ve uzak metastaz yaptığı bildirilmiştir^{87,88}.

Tübüler adenokarsinom, dilate veya dallanan tübül yapılarından oluşur. Tümör hücreleri, bu yapıların müsin içeriğine bağlı olarak, kolumnar, kübik veya yassı şekilde görülebilirler. Tümör hücrelerinin sitolojik atipisi, düşük veya yüksek olabilir. Bu tipin daha az diferansiye olan formlarında, tümör hücreleri bez ya da tübül yapmaksızın geniş tabakalar oluştururlar. Bu alt tip, “**solid karsinom**” olarak da adlandırılır⁸⁶.

Müsinöz karsinomlar, diğer organlarda olduğu gibi, midede de, tümörün %50'sinden fazlasında müsin gölcükleri şeklinde görülen hücre dışı müsinde oluşur. Genellikle iki şekilde görülür: Birinci tipte müsin üreten epitelin döşediği bez yapılarının etrafında müsin gölcükleri vardır. İkinci tipte, müsin gölcükleri içinde yüzen, düzensiz ve küçük hücre kümeleri mevcuttur. Nadiren bu müsin gölcüklerinin içinde tek tek duran taşlı yüzük hücreleri de görülebilir. Bu son bahsedilen pattern, tümördeki baskın pattern ise, bu tümör “taşlı yüzük hücreli karsinom” (*signet-ring cell carcinoma*) olarak adlandırılır³⁹

Diskoheviz karsinom da ise, tümör hücreleri ya tek tek dururlar, ya da küçük hücre kümeleri oluştururlar. Bu grup daha çok genç hastalarda görülüp, korpus yerleşimlidir. Diskoheviz karsinomun, Laurén sınıflamasındaki karşılığı diffüz tiptir. Hücre için müsinin çok olduğu durumlarda, müsin hücre çekirdeğini kenara iterek “taşlı yüzük” hücrelerini (*signet-ring cells*) oluşturur. **Taşlı yüzük hücreli karsinoma** adını veren taşlı yüzük hücrelerinde, çekirdek kenara itilmiş, ve sitoplazma müsin ile dolmuştur. Hücre dışı müsin, bu tip tümörlerin çoğunda görülür. Hücre dışı müsin olmaksızın taşlı yüzük hücreleri *lamina propria* içinde dağınık olarak bulunduğu zaman, tümörü H&E kesitlerde tanıyabilmek güç olabilir. Böyle durumlarda, PASAB-2,5 ve müsikarmen gibi konvansiyonel müsin boyaları kullanmak yardımcıdır. Sitoplazmanın içindeki müsin, nötral veya asidik tipte olabilir. Taşlı yüzük hücreli karsinomlar, genellikle infiltratif büyüme paterni ve belirgin desmoplazi gösterirler. Klasik literatürde, taşlı yüzük hücre morfolojisinin, bağımsız bir kötü prognostik faktör olduğu düşünülmekte iken son yıllarda yapılan bazı çalışmalar, taşlı yüzük hücre morfolojisinin bağımsız bir faktör olmayıp, bu karsinomların daha ileri evrede oldukları için kötü prognozlu olduklarını göstermiştir^{37,38}.

Mikst karsinom ise hem glandüler, hem de taşlı yüzük/zayıf koheviz tipte tümör komponentlerine sahiptir. Diskoheviz/taşlı yüzük hücreli karsinomların

kötü prognoza sahip oldukları bilindiği için bu komponentin varlığının mutlaka bildirilmesi önerilmektedir⁸⁶.

7.2. Lauren Sınıflaması

Lauren sınıflamasına göre mide karsinomları; diffüz, intestinal, mikst ve belirsiz (indiferansiye) tip olmak üzere dört gruba ayrılır.

Diffüz tipte zayıf kohezyon gösteren tümör hücreleri mevcut olup bez yapıları görülmez. İntestinal tipte çeşitli diferansiyasyon aşamalarında bez yapıları vardır. Mikst tipte ise tümör diffüz ve intestinal tipi birbirine yakın oranlarda içermektedir. Belirsiz tipte ise belirgin bir morfoji saptanamaz⁸⁹.

7.3. Diğer Sınıflamalar: Ming, Goseki ve Carnerio

Ming sınıflaması, büyüme ve invazyon patternlerini temel almıştır. Bu sınıflamanın iki alt tipi vardır: Ekspansil ve infiltratif. Ekspansil tip, mide kanserlerinin yaklaşık %70'ini oluşturmakta ve daha çok, iyi diferansiye adenokarsinomlarda görülmektedir. İnfiltratif tip ise, daha kötü bir prognoza sahiptir³⁹.

Goseki sınıflaması, bez oluşturma ve müsin sentezleme kapasitesine dayanır. Bu sınıflamanın dört alt tipi vardır. İlk iki alt tipte iyi diferansiye, son iki alt tipte kötü diferansiye tübüller görülür. Birinci ve üçüncü alt tipte hücre içi müsin azken, ikinci ve dördüncü alt tip hücre içi müsin zengindir. Yapılan bazı çalışmalarda, TNM evreleme sistemi ile birlikte değerlendirildiği zaman Goseki sınıflama sisteminin prognozu belirlemede daha etkin olabileceği gösterilmiştir⁹⁰.

Carnerio sınıflaması ise morfoji ve immüfenotipik değerlendirmeye dayanır; glandüler, solid, izole hücreli ve mikst olarak dört gruba ayrılır⁸⁶.

Tablo 2. Mikroskopik sınıflama³⁹

Lauren(1965)	Ming (1977)	Goseki (1992)	Carnerio(1997)	WHO (2010)
İntestinal	Ekspansil	İntrasellüler müsinden fakir/zengin iyi differansiye tubuller	Glandüler Solid	Tubuler Papiller
Diffüz	İnfiltratif	İntrasellüler müsinden fakir kötü differansiye tubuller	İzole hücreli	Zayıf koheziv Müsinöz
Belirsiz		İntrasellüler müsinden zengin kötü differansiye tubuller		Adenoskuamöz Skuamöz Küçük hücreli

7.4. Nadir Alt Tipler

Medüller karsinom, stromadaki belirgin lenfositik infiltrasyon ile karakterizedir. Bu nedenle “lenfoepitelyoma benzeri karsinom” olarak da adlandırılır. Genel olarak tümör hücreleri sinsityal özellikte tabakalardan oluşur. Büyüme paterni genel olarak ekspansildir. EBV ile ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir⁹¹. Bu alt tip genellikle proksimal yerleşimlidir. Subtotal gastrektomi sonrasında kalan mide dokusundan gelişen kanserler içindeki payı daha yüksektir. Moleküler patogenezinde, CpG adacıklarının metilasyonu önemli bir yer tutar⁹² Genellikle iyi prognozlidir⁹³.

Paneth hücreli karsinomdaki tümör hücreleri, Paneth hücresine benzer farklılaşma gösterirler. Tümör hücrelerinin parlak eozinofilik granüler sitoplazmaları vardır. Bu granüller lizozimle immünohistokimyasal olarak gösterilebilirler⁹⁴.

Hepatoid karsinomun tüm gastrik karsinomlar içindeki payı, literatürde %1,3 ile %15 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir⁹⁵. Bu alt tipte neoplastik hücreler, hepatosellüler karsinom hücrelerine benzer bir şekilde geniş, eozinofilik ve poligonal sitoplazmaya sahiptirler. Hepatoid alanlar, tipik intestinal adenokarsinom alanları arasında dağınık halde bulunabilir. Hepatoid karsinomlar immünohistokimyasal olarak, sitoplazmik HepPar-1ve kanaliküler poliklonal CEA pozitif

tifliği gösterilebilirler⁹⁶. Midede görülen hepatoid karsinomların, hepatosellüler karsinom metastazından ayrımı için SALL4 isimli yeni bir immükimyasal işaretçi tanımlanmıştır⁹⁷.

Hepatoid karsinom alt tipinin içinde, midenin **AFP üreten karsinomları** da vardır. Bu alt tipin neoplastik hücreleri, berrak sitoplazmalı olup, iyi differansiye papiller veya tübüler adenokarsinom morfolojisindedir. AFP pozitifliği, immünohistokimyasal yollarla gösterilebilir. AFP üreten mide karsinomunun prognozu oldukça kötü olup, 5 yıllık sağ kalımı literatürde %12 olarak bildirilmiştir^{95,98}.

Koryokarsinom midede çok nadirdir. Ancak koryokarsinom benzeri mide karsinomu, tipik adenokarsinom alanları içinde dağınık halde bulunan sitotroblastik ve sinsityotroblastik hücrelerden oluşur. Adenokarsinom alanları içinde endodermal sinüs tümörü alanları da bulunabilir. Bu alt tip, genel olarak egzofitik büyüme paterni gösterir. Hem makroskopik hem de mikroskopik olarak, belirgin nekroz ve kanama alanları görülür. İmmünohistokimyasal olarak β -hCG pozitifliği gösterilebilir⁹⁹.

Parietal hücreli (onkositik) karsinom literatürde nadiren bildirilen bir alt tiptir. Mikroskopik olarak, geniş, granüler ve eozinofilik sitoplazmalı tümör hücrelerinin oluşturduğu solid tabakalar gözlenir. Tümör hücreleri, fosfotungstik asit-hemotoksilen (PTAH) ve Luxol mavi konvansiyonel boyalarıyla ve immünohistokimyasal olarak, pariyetal hücrelere karşı spesifik antikolarla gösterilebilir¹⁰⁰. Elektron mikroskopisinde çok sayıda mitokondri ve intraselüler kanaliküller izlenebilir. Bu alt tipin, sık görülen diğer alt tiplere kıyasla, daha iyi prognoza sahip olduğunu gösteren çalışmalar vardır^{101,102}.

Karsinosarkom midede çok nadir görülür. Histopatolojide, değişen oranlarda adenokarsinom ve sarkomatöz alanlar mevcuttur. Sarkomatöz komponentte, kondrosarkom, osteosarkom, rabdomyosarkom ve leiomyosarkom diferansiyasyonu görülebilir¹⁰³. Karsinosarkomun prognozu son derece kötüdür¹⁰⁴.

Adenoskuamöz hücreli karsinom nadir alt tiplerden biridir. Adenokarsinom komponentinin yanında skuamöz diferansiyasyon gösteren alanlar vardır. Bu alt tipi, benign görümlü skuamöz metaplaziden ayırmak gereklidir¹⁰³.

7.5. Sendromlarla İlişkili Alt Tipler

Ailesel difüz mide karsinomu: E-cadherin proteinin kodlayan *CDH1* genindeki mutasyon ailesel difüz mide kanserine neden olur. Bu mutasyona sahip bireylerde gastrik kanser gelişme riski, erkeklerde %67 ve kadınlarda %83'dür. Kadınlarda, difüz tip gastrik karsinomun yanısıra, lobüler tip meme karsinomu insidansı da artmıştır. Bu hastalarda görülen difüz tip mide karsinomu genellikle taşlı yüzük hücrelerinden oluşur.

Li-Fraumeni sendromu: Li-Fraumeni sendromlu hastaların %50-70'inde, ailesel *TP53* mutasyonları görülür. Bu sendromda en sık rastlanan tümörler sarkomlar, meme kanserleri ve beyin tümörleridir. Li-Fraumeni sendromlu hastalarda görülen tümörlerin %10'undan azı gastrointestinal sistem tümörleri olup, bunların da yarısından fazlası, birden fazla lokalizasyondan gelişebilen mide kanserleridir.

Heretider nonpolipozis kolorektal kanser sendromu (HNPCC): Bu sendromlu hastalarda görülen tümörlerin %3-11'i, intestinal tipte mide karsinomudur. HNPCC sendromunda görülen mide kanserlerinde mikrosatellit instabilitesine sık rastlanır.

Peutz-Jeghers sendromu: Bu sendromdan, 3.3 lokusundaki *STK11* geninin mutasyonları sorumludur. Peutz-Jeghers sendromunda midede tipik olarak hamartomatöz polipler görülür, ancak mide kanseri riskinin artıp artmadığı konusu tartışmalıdır.

Ailesel adenomatöz polipozis (FAP): Bu sendromdan, 5'inci kromozomun uzun kolundaki *APC* geninin mutasyonları sorumludur. FAP'lı hastaların

midelerinde, özellikle fundusta, çok sayıda polip gelişir. Bu polipler neoplastik transformasyon da geçirebilir. Bu durum özellikle Uzakdoğulu hastalarda görülür.

Gastrik hiperplastik polipozis: Otozomal dominant kalıtımı olan bir sendromdur. Yaygın psöriyazise ek olarak, midede hiperplastik polipler ve diffüz tipte mide karsinomu bu sendrom için tipiktir.

Tablo 3. Mide karsinomlarında sendrom ile ilişkili alt tipler³⁹

Sendrom	Gen	Tümör
HDGC	CDH1	Kolorektal kanser Lobüler meme kanseri
HNPCC sendromu	MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	Kolorektal kanser Endomteriyal kanser Üriner sistem kanserleri Over kanseri
Peutz-Jeghers sendromu	STK11	Kolorektal kanser Over kanseri Serviks kanseri Meme kanseri Pankreas kanseri
FAP sendromu	APC	Kolorektal kanser Beyin tümörleri
Li-Fraumeni sendromu	TP53	Osteosarkom Yumuşak doku sarkomları Meme kanseri Beyin tümörleri Lösemi Lenfoma Adrenal karsinomlar Akciğer kanseri Kolorektal kanser

HDGC: *Hereditary diffuse gastric cancer* (Ailesel diffüz mide kanseri); HNPCC: *Hereditary non-polyposis colorectal cancer* (Kalıtsal non-poliposis kolorektal kanser); FAP: *Familial adenomatous polyposis* (Ailesel adenomatöz polipozis)

7.6. Mide Karsinomlarında İmmünohistokimya

Mide karsinom hücreleri, kural olarak EMA, keratin ve CEA ile immünreaktivite gösterirler¹⁰⁵. Keratin 7/20 paneli değişebilmekle beraber vakaların büyük bir kısmı keratin 7 pozitifdir¹⁰⁶. Özellikle diffüz tipte vimentin pozitifliği de bildirilmiştir¹⁰⁷.

Gündelik pratikte kullanılmasa da, gastrik orjini göstermede daha spesifik olan, pepsinojen I, pepsinojen II, kimosin gibi gastrik proteazların kullanımı çeşitli çalışmalarda önerilmiştir¹⁰⁸. Mide adenokarsinomlarında %10 ile %50 oranında β -hCG pozitifliği bildirilmiş olup, bu olgular çok nadir bir alt tip olan koryokarsinom sınıfına koyulmamalıdır¹⁰⁹.

Literatürde MUC1'in intestinal tipte, MUC5AC'nin diffüz tipte, MUC2'nin ise müsinöz tipte pozitifliği gösterilmiştir³⁹. Müsin tipi ile lokalizasyonun ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar MUC5AC'yi antrum, MUC2'yi ise kardiya ile ilişkilendirmiştir¹¹⁰.

Müsin immünohistokimyasına göre, mide kanserleri üç farklı fenotipik gruba ayrılmaktadır. Histolojik alt tip gastrik fenotipten intestinal fenotipe kaydıka tümör progresyonu görüldüğü bildirilmiştir³⁹.

- **Tip G (gastrik fenotip):** MUC5AC ve/veya MUC6 pozitif, MUC2 ve CD10 negatif
- **Tip I (intestinal fenotip):** MUC2 ve/veya CD10 pozitif, MUC5AC ve MUC6 negatif
- **Tip N (null fenotip):** MUC2, CD10, MUC5AC ve MUC6 negatif

8. MİDE KANSERİ – KLİNİKOPATOLOJİK YAKLAŞIM

8.1. Erken Mide Kanseri

Erken mide kanseri, lenf nodu metastazı durumuna bakılmaksızın, submukoza veya mukoza ile sınırlı invaziv karsinomlar için kullanılır. Bu tanım Japonya’ da mide tarama programları sonucu asemptomatik hastalarda erken kanserin gösterilmesi neticesinde kullanılmıştır. Sıkı takip protokolleri sonucunda son yıllarda Japonyada erken mide kanserinin tüm mide kanseri olgularının büyük bir kısmını oluşturduğu gösterilmiştir⁴⁰.

Erken mide kanserinin çoğu 2-5 cm arasında, daha sık oranda küçük kurvaturda yerleşim gösteren tümörler olup, çoğunlukla tubuler ve papiller morfolojiye sahiptirler⁸⁶.

Endoskopik biyopsi erken mide kanseri tanısında çoğunlukla yeterlidir. Ancak tümörün lamina propriada az sayıda taşlı yüzük hücrelerinden ibaret olması lezyonun atlanmasına neden olabilir. Bu nedenle endoskopide lezyon kenarlarından multipl biyopsiler alınması önerilmektedir. Endoskopik biyopsilerde bir diğer güçlük yaratan durum ise invazyon derinliği tayinidir.

8.2. Prognoz

Mide kanserinin ABD’de beş yıllık ortalama sağ kalımı %24 olup, aynı oran kolon kanserinde %64’tür. Japonya’daki ortalama sağ kalım süreleri, Batı’ya kıyasla daha yüksektir. Bunun sebebinin lenf nodu disseksiyonunun daha geniş yapılmasından ve/veya yanlış düşük evreleme oranının az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir¹¹¹.

8.3. Prognostik Parametreler

8.3.1. Evre

Mide kanseri evreleme (Stage) konusunda Batı ve Japon yaklaşımında farklılıklar vardır. Batı'da ve Türkiye'de, Amerikan Ortak Kanser Komitesi* (AJCC) ve Uluslararası Kanserle Savaş Birliği† (UICC) tarafından ortaklaşa hazırlanan TNM sınıflaması kullanılır (Tablo 4). Japon sınıflaması ise, primer tümörün anatomik yerleşimi ile çıkartılacak lenf nodlarını eşleştirerek, prognozu belirlemekten çok cerrahiye yol gösterme amaçlıdır. Prognozu daha iyi tayin ettiği için TNM sistemi çok daha yaygın kullanılmaktadır¹¹² (Tablo 5).

Mide adenokarsinomlarının patolojik evrelemesi (pTNM) cerrahi rezeksiyon sonrası, tümörün yaptığı mide duvarı invazyon derinliği (T), lenf nodu tutulumu(N) ve metastaz durumu (M) dikkate alınarak yapılır.

Özofagogastrik bileşkeyi tutan veya bileşkeden en fazla 5 cm'e kadar uzaklıkta yer alan tümörlerde özofagus kanseri evrelemesi kullanılır. Diğer lokalizasyonlarda ise mide kanseri evrelemesi kullanılır¹¹².

Mide kanserinin evrelemesinde, T parametresini, tümörün mide duvarının hangi katmanına invazyon yaptığı belirler. T kategorisi; kolon tümörlerinden farklı olarak T1; T1a (lamina propria invazyonu) ve T1b (submukoza invazyonu) şeklinde ayrılmıştır. Kolon kanserlerindeki lamina propria invazyonu Tis (insitu kanser) olarak kabul edilirken, mide kanserlerinde aynı invazyon derinliği midede T1a'ya karşılık gelir. Bunun nedeni mide karsinomlarında tümörün henüz lamina propria sınırlı iken dahi lenf nodu metastazı yapabilmesidir. İki organ arasındaki bu farklılık midenin mukozasında yer alan zengin lenfatik ağdan kaynaklanmaktadır.

Evrelemede N parametresini, kanser tarafından tutulan lenf nodlarının sayısı belirler. Yapılan çeşitli çalışmalarda lenf nodu tulumunun, lenf nodu sayısına

* İngilizce *American Joint Committee on Cancer*

† Fransızca *Union Internationale Contre le Cancer*

bakılmaksızın prognozu etkilediği bulunmuştur. Prognoz belirlemede disseke edilmesi önerilen lenf nodu sayısı da 15 ten 16'ya çıkarılmıştır^{112,113}.

Pozitif peritoneal sitoloji veya uzak organ metastazı M1 olarak sınıflanır.

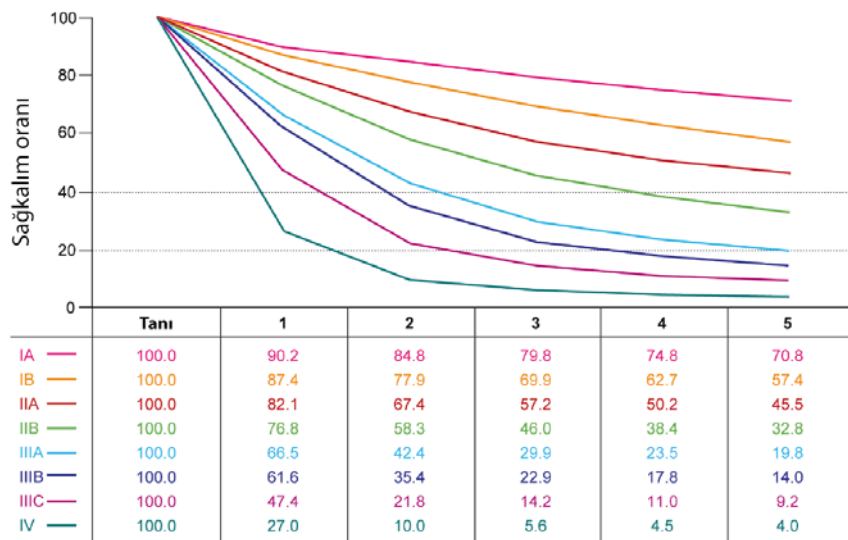
On bin gastrektomi olgusunu kapsayan bir meta-analizde, evrenin sağkalm açısından en önemli prognostik parametre olduğu vurgulanmıştır¹¹¹ (Şekil 4).

Tablo 4. Mide kanseri evreleme¹¹²

Primer tümör (T)	
TX	Primer tümör değerlendirilemedi
T0	Primer tümöre ilişkin bulgu yok
Tis	Karsinoma <i>in situ</i> ; <i>lamina propria</i> invazyonu olmaksızın intraepitelyal tümör
T1	Submukozasya kadar invazyon
T1a	<i>Lamina propria</i> veya <i>muscularis mucosae</i> invazyonu
T1b	Submukoza invazyonu
T2	<i>Muscularis propria</i> invazyonu
T3	Viseral periton veya komşu organ invazyonu olmaksızın subseroza bağ dokusu invazyonu
T4	Viseral periton (seroza) veya komşu organ invazyonu
T4a	Seroza invazyonu
T4b	Komşu organ invazyonu
Bölgesel lenf nodu sayısı (N)	
NX	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	1-2 bölgesel lenf nodu metastazı
N2	3-6 bölgesel lenf nodu metastazı
N3	≥7 bölgesel lenf nodu metastazı
N3a	7-15 bölgesel lenf nodu metastazı
N3b	≥16 bölgesel lenf nodu metastazı
Uzak metastaz (M)	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Tablo 5. Mide kanserinde evre ile prognozun ilişkisi¹¹²

Anatomik evre / Prognostik gruplar			
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
Evre IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
Evre IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
Evre IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
Evre IIIB	T4b	N0	M0
	T4b	N1	M0
	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
Evre IIIC	T4b	N2	M0
	T4b	N3	M0
	T4a	N3	M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M1



Şekil 4. Mide kanserinde evre ile sağkalım ilişkisi¹¹²

8.3.2. Derece (Grade)

Mide karsinomlarının derecelendirilmesi temel olarak tümörün bez yapabilme yeteneğine dayalıdır. Bu nedenle derecelendirme daha çok intestinal tipteki kanserler için kullanılır. İyi diferansiye adenokarsinomlar iyi forme olmuş bez yapılarından oluşmakta iken kötü diferansiye olanlar genellikle tanınabilen, irregüler bez yapıları oluştururlar⁸⁶. Derecelendirme, patoloji raporlarında mutlak belirtilse de hala prognoza etkisi tartışmalıdır¹¹⁴.

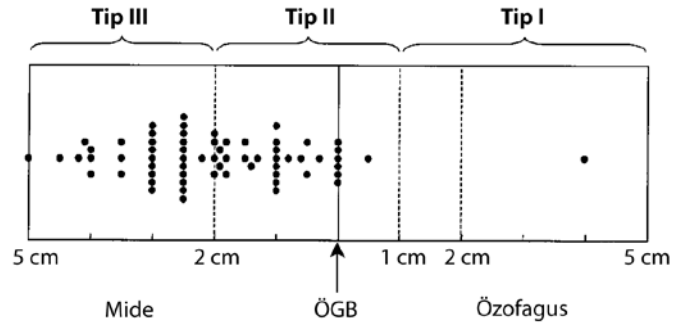
8.3.3. Tümör lokalizasyonu

Son yıllarda antral yerleşimli adenokarsinomların sıklığında ve mortalitesinde bir düşüş görülürken proksimal mide yerleşimli karsinomların görülme sıklığı 5-6 kat artmıştır¹¹⁵. Distal yerleşimli kanserlerin aksine, proksimal yerleşimli kanserler, *Helicobacter Pylori* ile daha az ilişkilidir ve yüksek sosyoekonomik düzeyli obez hastalarda görülürler¹¹⁶.

Proksimal yerleşimli karsinomların prognozu aynı evredeki distal mide karsinomlarından daha kötüdür. Mide duvarına invazyonları daha derindir ve lenf nodu metastazı da daha sık görülür. Kim ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı 1141 olguyu kapsayan çalışmada, olgular kardiya ve kardiya dışı şeklinde 2 gruba ayrılmıştır. İki grubun p16, EBV ve münin immünohistokimya profilleri farklı bulunmuştur. Kardiya yerleşimli tümörler yüksek derece, ileri evre ve kötü prognoz ile ilişkilidir, multivaryans sağkalım analizinde, tümörün kardiya yerleşmiş olması bağımsız kötü prognostik parametre olarak belirlenmiştir¹¹⁷.

Proksimal midede yerleşen tümörlerin kaynağının kardiya mı yoksa fundik mukoza mı olduğu konusu hala kesinlik kazanmamıştır. Mevcut tümör aynı zamanda mide ve özofagusu tutmuşsa, bu tip tümörlerin nasıl sınıflandırılacağı konusu tartışma yaratmıştır.

Bu konuda 1987'de Siewert ve arkadaşları tarafından geliştirilen sınıflama genel olarak kabul görmüştür (Şekil 5). Bu sınıflamaya göre, tümörün merkezi gastroözofageal bileşkenin 1cm'den fazla üzerinde ise tip I (özofagus adenokarsinomu), tümörün merkezi bileşkenin 2 cm'ye kadar altında ise tip II (gerçek kardiya adenokarsinomu), tümörün merkezi bileşkenin 2 ile 5 cm altında ise tip III (subkardiya adenokarsinomu) olarak kabul edilir¹¹⁸.



Şekil 5. Siewert sınıflaması¹¹⁹

8.3.4. Yaş ve cinsiyet

Mide karsinomu genel olarak 30 yaşından büyük hastalarda görülür. Yaş arttıkça görülme sıklığının arttığı bilinmektedir. Genç hastalarda görülen mide kanserleri, daha sık diffüz morfolojide olup, ailevi olma olasılığı yüksektir. Birçok çalışmada pronozun yaş ve cinsiyet ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir¹²⁰.

8.3.5. Tümör çapı

En büyük tümör çapı birçok retrospektif çalışmada lenf nodu tutulumu ve sağkalım ile ilişkili bulunmuştur¹¹⁴. Siewert ve arkadaşlarının yaptığı prospektif randomize çalışmadaki multivaryans sağkalım analizinde tümör çapı bağımsız prognostik parametre olarak kabul edilmiştir¹¹⁸.

8.3.6. Mikroskopik tip

Lauren sınıflamasına göre diffüz histolojik tipin bağımsız prognostik faktör olduğu bilinmektedir¹²¹.

8.3.7. Lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon

Yapılan çalışmalarda lenfovasküler ve perinöral invazyon, kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Vasküler invazyonun bağımsız prognostik faktör olduğu gösterilmiştir^{122,123}.

8.3.8. Stromal yanıt

İnvaziv gastrik karsinoma karşı gelişen dört farklı stromal yanıt bulunmaktadır. Bunlar; belirgin desmoplazi, lenfositik infiltrasyon, stromal eozinofili ve granülo-matöz yanıtıdır.

Aşkar desmoplastik yanıtın peritoneal yayılım ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir¹²⁴. Lenfositik yanıt çoğunlukla T lenfositlerinden oluşmakta olup desmoplazinin aksine iyi prognozla ilişkili bulunmuştur¹²⁵.

8.3.9. C-erb-b2 (HER2)

HER2, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ailesinin bir üyesidir. Mide kanserlerinin %7-34'ünde aşırı HER2 ekspresyonu görülür. Mide kanserlerinde aşırı HER2 ekspresyonunun, tümör derinliği, lenf nodu metastazı ve intestinal morfoloji gibi klinikopatolojik değişkenlerle ilişkili olduğu bulunmuştur¹²⁶.

Diffüz ve mikst tipte HER2 ekspresyonu daha düşüktür. HER2 aynı zamanda bağımsız bir prognostik faktör olup; aşırı HER2 ekspresyonunun, kısa sağ kalım ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir¹²⁷.

8.3.10. EBV

Literatürdeki veriler, dünya çapında mide kanserlerinin %5-10'unun EBV ile ilişkili olduğunu göstermektedir¹²⁸. EBV ile ilişkili mide kanserleri, kanserle ilişki genlerin promoter bölgelerinin metilasyonu ve bunun sonucu olarak bu genlerin ekspresyonunun azalmasıyla karakterizedir¹²⁹. Bu metilasyonun nasıl mide kanserine yol açtığı henüz bilinmemektedir. Ancak bazı genlerin ekspresyonunun, EBV enfeksiyonunun latent-litik evrelerinin modülasyonundan sorumlu olabileceği ve bu sayede EBV'nin bağışıklık sisteminden kaçarak konak hücrede saklanmasına olanak sağladığı düşünülmektedir¹³⁰.

Histopatolojik olarak lenfositik infiltrasyon ve diffüz morfolojinin tipik olduğu söylenebilir; bazı serilerde intestinal morfolojinin, özellikle de tübüler görünüm baskın olduğu bildirilmiştir^{131,132}.

EBV ile ilişkili mide kanserleri erkeklerde daha sık görülür, kardiyayı ve gastrektomi sonrası kalan midede gelişebilir. Lenf nodu metastazı daha nadirdir ve genel olarak daha iyi prognoza sahiptirler¹³³.

9. MİDE KANSERİ – KÖK HÜCRELER

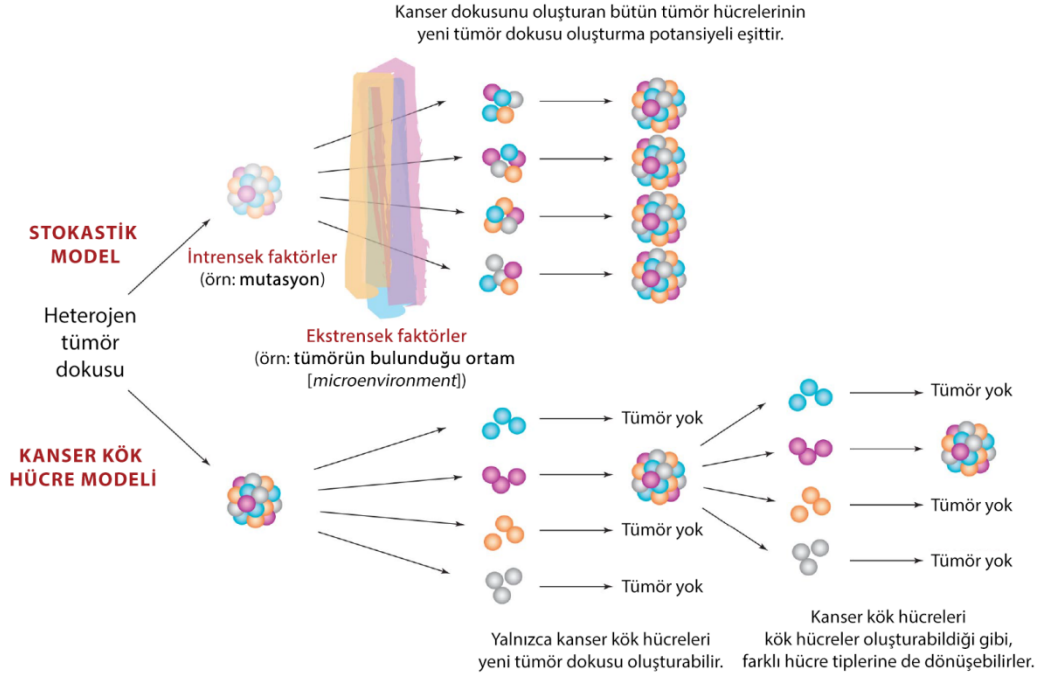
Kanserlerde kök hücre teorisi, tümörün başlangıcı, büyümesi, metastazı ve relapsına farklı bir bakış açısı getirmektedir. Bu görüş esas olarak, konvansiyonel küratif tedavilere rağmen metastaz görülmesi ve kısa sağkalım dikkate alındığında ortaya atılmıştır¹³⁴.

Kanser gelişimi temel olarak iki teoriye dayanmaktadır. Birincisi, klasik model olan stokastik (rastgelelik, rastlantısallık) modeldir. (Şekil 6). Bu modele göre, tümör dokusundaki bütün hücreler kanseri başlatabilme yeteneği açısından eşittirler. Yani doku içinde yer alan herhangi bir hücre, zaman içinde gelişen mutasyonlar sonucunda kanseri başlatabilir. Gelişen her bir mutasyon, tümörde farklı bir biyolojik özelliğin oluşmasına neden olabilir. Mesela, belli tip mutasyonların ardarda gelişmesi, o hücreye metastaz kabiliyeti kazandırabilir.

İkinci model olan kök hücresi teorisine göre, tümörü oluşturan bütün hücreler, normal doku kök hücreleri gibi kendi kendini yenileyebilen ve sürekli çoğalabilen hücrelerden, yani kanser kök hücrelerinden köken alırlar¹³⁵. Bu hücreler öncülü oldukları daha genç ve farklılaşmış hücrelere göre daha uzun ömürlü oldukları için bünyelerinde daha fazla genetik ve epigenetik mutasyonları biriktirebilirler¹³⁴.

Kanser kök hücresi görüşüne göre tümör kitlesi içinde az sayıda, kendi kendini yenileyip diğer tümör hücrelerini oluşturabilen az sayıda kanser kök hücresi bulunmaktadır. Bu hücreler ya kök hücreden gelişmekte ya da daha alt basamaktaki progenitör hücrelerin bir takım mutasyonları kazanmaları sonucunda oluşmaktadır⁵.

Kanser kök hücre popülasyonunun belirlenmesi; malignitelerin erken dönemde tanınması, tümör davranışının belirlenmesi ve bireye özgü tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine olanak sağlayacağı için önemlidir⁵.



Şekil 6. Kanser gelişiminde stokastik model ve kök hücre modeli

Kanser kök hücre teorininin temelleri ilk kez bir grup Avrupalı patoloğun kanser dokusunun normal dokulara benzer şekilde, farklı differansiyasyon gösteren, heterojen hücre gruplarından oluştuğunun gözlenmesi ile atılmıştır²³. Kanser kök hücreleri ilk kez ise 1994'te Bonnet ve arkadaşları tarafından, akut miyeloid lösemide tanımlanmıştır¹³⁶. Bu kök hücrelerin, toplam tümör popülasyonunun %0,01 ila %1'ini oluşturduğu ve immün yetmezliği olan farelere transplante edildikleri zaman farelerde tümör geliştirdiği görülmüştür.

Günümüze kadar, kanser kök hücreleri temel olarak iki şekilde izole edilmiştir. Bu yöntemler *in vitro* ve *in vivo* olarak sınıflandırılabilir. *In vitro* yöntemlerden biri olan özel besiyerinde koloni oluşumu, kök hücrelerin kendi kendilerini yenileyebilme kapasitesine bağlıdır ve onları kanser kök hücre fenotipine sokmaktadır. Bir diğer *in vitro* yöntem, kanser kök hücre adayları olan hücrelerin belirli bazı yüzey molekülleri sayesinde diğer kanser hücrelerinden izole edilebilmeleridir.⁷ *In vivo* yöntemde ise, immün sistemi baskılanmış farelerin cilt altına veya spe-

sifik organına kanser kök hücresi olduğu düşünülen hücreler ekildiği zaman, yeni tümör dokularının gelişip gelişmemesine dayanır.

Takaishi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, bu yöntemler kullanılarak, gastrik kanser kök hücre kültürleri elde edilmiştir. Bunlardan en iyi bilinenleri NCI-N87, AGS, MKN-28, MKN-45 ve MKN-74 tür. Elde edilen bu kanser kök hücreleri, küresel koloni oluşturduktan sonra immün sistemi baskılanmış farelere enjekte edildikleri zaman tümör gelişimine neden oldukları için kanser kök hücresi içerdikleri teorisi desteklenmiştir^{8,137}. Benzer yollarla, birçok solid tümörde kanser kök hücreleri belirlenmiştir^{138,139}.

Kanser kök hücresi teorisinin geçerliliği, mide tümörlerinin tanı ve tedavisinde değişik yaklaşımlara yol açacaktır. Günümüzün tedavi yaklaşımında, hızlı bölünen ve farklılaşmış hücreler hedef alınmaktadır. Bu görüşün kabul bulması, tümör oluşumunu tetikleyen ve körükleyen kanser kök hücrelerinin hedef hücre olmasını gerektirecektir.

Kanser kök hücrelerinin kaynağı, en temel ve en basit olarak, bulunduğu organdaki kök veya progenitör hücrelerdir, ancak bazı çalışmalar kanser kök hücrelerin kemik iliğinden geldiğini göstermektedir. 2000'li yıllarda başta hematopoetik sistem olmak üzere, santral sinir sistemi ve sindirim sisteminde önce farelerde sonra insanlarda kök hücreler tanımlanmıştır.¹⁴⁰⁻¹⁴² Son birkaç yıl içinde meme kanseri¹⁴³, baş ve boyun kanserleri¹⁴⁴, renal hücreli karsinom, pankreas kanseri¹⁴⁵, akciğer kanseri⁸¹, hepatosellüler karsinom,¹⁴⁶ ve melanom¹⁴⁷ gibi solid tümörlerde kanser kök hücreleri gösterilmiştir.

Olası kanser kök hücrelerini daha iyi anlayabilmek için, öncelikle doku kök hücrelerini tanımak gereklidir. Kanser kök hücresinin normal kök hücre ile benzer 3 önemli özelliği bulunmaktadır: 1.Kendi kendini yenileyebilme, 2. Asimetrik ve simetrik büyüme, 3. Farklılaşmış tümör hücrelerini oluşturabilme.

9.1. Mide Epiteli Kök Hücreleri

Bir kök hücrenin en temel özelliği kendi kendini yenileyebilme ve farklı tip daha olgun hücreleri oluşturabilmesidir¹⁴⁸. Normal mide epitel kök hücreleri ilk kez yetişkin farelerde, Bjernkes ve Cheng tarafından tanımlanmıştır¹⁴⁹. Mide kök hücrelerinin istmus ve boyun bölgelerinde bulunduğu ve bu hücrelerin yukarı lümene veya aşağı bazale doğru göç ederek diğer olgun hücre tiplerini (mukus sekrete eden hücreler, parietal hücreler, esas hücreler) farklılaştığı gösterilmiştir¹⁴².

2007'de Qiao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, gastrik kök hücre belirteci olan villin tanımlanmıştır. Villin (+) kök/progenitor hücrelerin istmusun hemen altında yer aldığı, normalde istirahat halinde olup sitokin maruziyetiyle bölünmeye başladıkları, korpus bulunmadıkları, antrumdaki bezleri oluşturdukları gösterilmiştir¹⁴². Barker ve arkadaşları ise, bazalde bulunan Lgr5 (+) hücrelerin, antral bezlerdeki bütün hücreleri oluşturdukları gösterilmiştir¹¹. Lgr5 (+) hücrelerin, normal hücre döngüsünü sağladıkları; villin (+) hücrelerin ise normalde istirahat halinde buldukları, ancak Lgr5 (+) hücrelerin hasarı sonrası çoğalmaya ve farklılaşmaya başladıkları düşünülebilir. Sonuçta villin ve Lgr5, normal gastrik kök hücrelerin tespiti için altın standart olarak kabul edilmişlerdir.

2007 yılından itibaren yapılan çeşitli çalışmalarda midede farklı lokalizasyonlarda çeşitli kök hücreler ve bu hücrelerin patolojik durumlara yanıtları gösterilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Mide epitel kök hücreleri¹⁴⁸

İşaretçi	Lokalizasyon	Fonksiyon	Patolojik yanıt	Referans
Villin	Antrum istmus	Tüm hücre tiplerini oluşturur	Proliferasyon	Qiao ve ark. ¹⁴²
Lgr5	Antrum bezleri tabanı	Tüm hücre tiplerini oluşturur	Apc delesyonu sonrası tümör oluşturur	Barker ve ark. ¹¹
Tff2	Korpus istmus	Boyun, esas ve parietal hücreleri oluşturur	SPEM de eksprese olur	Quante ve ark. ¹⁵⁰
Mist1	Korpus bez tabanındaki esas hücreler	SPEM oluşumu	Diplazi ve karsinomda eksprese olmaz	Nam ve ark. ¹⁵¹
CD133	Gastrik bez tabanı	bilinmiyor	Kanserde ekspresyonu artar	Fukamachi ve ark. ¹⁵²
CD44	Gastrik bez tabanı; antrum ve korpus	bilinmiyor	Kanserde ekspresyonu artar	Takaishi ve ark. ⁸
Sox2	Korpus ve antrum bez tabanı hemen üstü	bilinmiyor	Kanserde ekspresyonu artar	Arnold ve ark. ¹⁵³
Sox9	Corpusta zayıf, pilorda kuvvetli immunekspresyon	bilinmiyor	Kanserde ekspresyonu artar	Sashikawa kimura ve ark. ¹⁵⁴
Bmi-1	Antrum boyun, korpus istmus	bilinmiyor	Kanserde ekspresyonu artar	Reinisch ve ark. ¹⁵⁵
Oct4	Antrum, pilor	bilinmiyor	Kanserde ekspresyonu artar	Al-marzoqee ve ark. ¹⁵⁶
Musashi-1	Antrum istmus ve boyun	bilinmiyor	Kanserde ekspresyonu artar	Wang ve ark. ¹⁵⁷
Aldh1	Antrum bez tabanı	bilinmiyor	Kanserde ve metaplastik bezlerin tabanında ekspresyonu artar	Wakamatsu ve ark. ⁹

9.2. Mide Kanseri Kök Hücreleri

9.2.1. Kanser kök hücrelerinin kökeni

Mide kanseri kök hücrelerinin en olası kaynağının, mide epitel kök hücreleri veya progenitor hücreler olduğu düşünülmektedir.

Diğer bir görüş ise kanser kök hücrelerinin enteresan bir şekilde kemik iliği kaynaklı olduğudur. Bu görüşe göre kronik inflamasyonlu bir dokuya kemik iliği kökenli hücreler göç etmekte, yerleşmekte ve neoplastik süreci başlatmaktadırlar.

Takaishi ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptığı çalışmada, farenin midesinde H. felis enfeksiyonu oluşturulmuş, 6-9 ay sonra midede mukozal atrofi, parietal hücre kaybı geliştiği gösterilmiştir. Neoplastik süreci başlattığı düşünülen kemik iliği kaynaklı hücreler beta galaktosidaz ile işaretlenmiş ve bu işaretli hücrelerin neoplastik bez yapıları içindeki varlığı gösterilmiştir¹³⁷. Bu model inflamasyonla ilişkili karsinogenezi ve kemik iliği kaynaklı hücrelerin neoplastik dönüşümdeki rolünü desteklemektedir.

Varon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda Helicobacter pylorinin, doku kök hücrelerini etkileyerek gastrik kansere ilerlemede etkili olduğu gösterilmiştir¹⁵⁸. Giannakis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fare modeli üzerinde atrofik gastrit oluşturulmuş, Helicobacter pylorinin gastrik kök hücrelerini enfekte ettiği ve bu durumun kanseri başlattığı gösterilmiştir¹⁵⁹. Çok yakın bir zamanda Uehara ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, Helicobacter pylorinin Lgr5+ gastrik kök hücreleri etkilediğini, burada çoğaldığını ve DNA hasarı oluşturarak kansere yol açtığını göstermişlerdir¹⁶⁰.

9.2.2. Kanser kök hücrelerinin tespiti

Bir kanser dokusunda, hangi hücrelerin tümör hücrelerini oluşturabildiği hangilerinin oluşturamadığının tespiti, kanser kök hücre araştırmalarında önemli bir yere sahiptir. Son on yıl içinde kanser kök hücre biyolojisi üzerine yapılan araştırmalar, bu hücrelerin görüntülenmesi, izolasyonu ve kendilerine has özelliklerinin tespiti için yeni işaretçilerin keşfedilmesine olanak sağlamıştır. Kanser kök hücrelerinin tespiti, aşağıda bahsedilen üç yolla mümkündür (Şekil 7).

9.2.2.1. Yan popülasyon (Side population)

Kanser kök hücreleri, akım sitometrisi yoluyla tespit edilebilir. Bu yöntem, kanser kök hücrelerinin, ATP bağlayan kaset (*ATP-binding cassette*, ABC) yüzey transporter proteinleri vasıtasıyla, DNA bağlayan floresan Hoeschst 33342 boyasını hücre dışına attıkları varsayımına dayanır. Buna göre tümör dokusundaki diğer hücreler bu boyayı tutup boyanırken, bu boyayı dışarı atan ve bu nedenle boyanmayan bir yan popülasyon (*side population*) bulunur. İşte bu yan popülasyon hücrelerinin kanser kök hücreleri olduğu düşünülmektedir.

9.2.2.2. Küresel koloni oluşturma

Çeşitli kanser hücre kültürlerinden elde edilen aday kanser kök hücreleri özel besiyerlerine ekildikleri zaman küresel koloni oluşturdıkları gösterilmiştir^{134,137}.

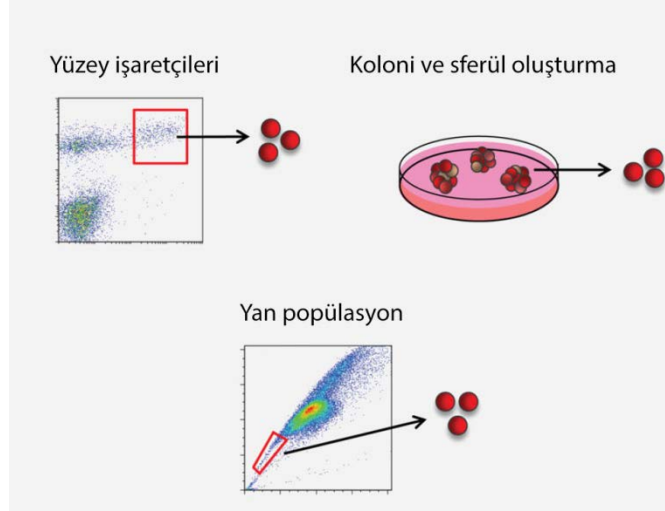
9.2.2.3. Yüzey işaretçileri

Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalarda birçok kök hücre işaretçisi tanımlanmıştır. Çeşitli solid organ karsinomlarında ve sonrasında midede yapılan çalışmalarda en sık kullanılmış olan kök hücre işaretçileri CD44 ve CD133 tür^{8,137}. Ancak daha yeni çalışmalarda mide kök hücre özelliklerini belirlemede ALDH-1 ve Lgr-5 in daha üstün olduğunu göstermiştir^{9,161}.

İlk kez Takaishi ve arkadaşları tarafından gastrik hücre kültürlerinden izole edilen CD44+ hücreler farelere verildikleri zaman, tümör oluşturdıkları gösterilmiştir⁸. Zang ve arkadaşları, gastrik hücre kültürlerinde ve gastrik kanser dokusundaki CD44+/CD24+ hücrelerin kendi kendilerini yenileyebildikleri ve tümör oluşturabildikleri gözlemlenmiş, bu işaretçilerin gastrik kanser kök hücre işaretçisi olduğu gösterilmiştir¹⁶².

İnsan mide kanseri dokusundan hazırlanan hücre kültürlerinde tespit edilen CD44, CD90 ve CD71 yüzey işaretçilerinin de, mide kanseri kök hücre işa-

retçileri oldukları düşünülmektedir¹⁶³⁻¹⁶⁵. Chen ve arkadaşları ise mide kanserli hastaların kanser dokularından ve periferik kanlarından CD44 ve CD54 pozitif hücreleri izole etmişler, bu hücrelerinin in vivo ve in vitro tümör oluşturabilme kapasitesinde olduklarını göstermişlerdir.¹⁶⁶



Şekil 7. Kanser kök hücrelerinin tespiti¹⁶⁷

9.3. Sık Kullanılan Kanser Kök Hücre Belirteçleri

Hematolojik malignitelerde ve çeşitli solid kanserde birçok kanser kök hücre belirteci tanımlanmıştır. Bunlardan CD44 ve CD133 en iyi bilinenleridir (Tablo 7).

9.3.1. CD44

CD44 ilk olarak eritrosit ve trombositlerde gösterilmiş bir yüzey reseptörüdür Lenfosit çağırıcı (homing) reseptör olarak adlandırılmıştır¹⁶⁸. CD44 bir transmembran glikoproteini olup, hücrede büyüme, farklılaşma ve sağkalım ile ilgili süreçlerde yer almaktadır¹⁶⁹. Tümör hücresindeki özgün fonksiyonu ise tümör mikroçevresine yanıt olarak, matrikse tutunma, tümör hücrelerinin biraraya gelmesi ve tümörün büyümesidir¹⁷⁰. Tümör hücresinin CD44 ile matrikse tutunması, bu kanser hücresinin bulunduğu çevre ile haberleşmesinde oldukça önemlidir¹⁷¹. CD44'ün Wnt/ β -katenin ve Hedgehog yolağı ile de ilişkili olduğu bilinmektedir^{8,162}.

2009 yılında Takaishi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ilk olarak, gastrik hücre kültürlerinden elde edilen CD44+ hücrelerin invitro küresel koloni oluşturdukları ve bu CD44+ hücrelerin immüsuprese farenin deri ve midesine enjekte edildiği zaman tümör oluşturdukları gösterilmiştir. Bu tümör oluşturma kabiliyeti, CD44+ hücrelerin kendi kendilerini yenileyebilme ve yeni nesil hücrelere öncül teşkil etme özelliğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir⁸. 2011 yılında Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, CD24 ve CD44+ hücrelerin AGC mide besiyerine ekildikleri zaman yine kendi kendilerini yenileyip alt nesilleri oluşturdukları gözlemlenmiştir. Bu durum CD24+ CD44+ hücre popülasyonunun içindeki kanser kök hücreleri varlığını desteklemektedir¹⁶².

CD44 geni, 11'inci kromozomun kısa kolunda yer almakta olup hücrede üç farklı komponenti bulunmaktadır. Bu kısımlar egzon 15 ve 16 yi içeren ekstrasellüler kısım, egzon 18 i içeren, transmembranel kısım ve egzon 20 yi içeren sitoplazmik bölümdür¹⁷¹.

CD44'ün birçok izoformu bulunmaktadır. Standart formu olan CD44s (standart) daha çok normal dokularda bulunur. Ucucuca eklenme gibi posttransyasyonel yöntemlerle CD44'ün farklı izoformları elde edilmiştir. Bunlardan en sık kullanılmış olanı CD44v (varyant) formudur. CD44v izoformunun, lenfositler, endotel, düzkas ve bağ dokusu hücrelerinin aksine sadece epitelial hücrelerde bulunduğu gösterilmiştir⁶³⁻¹⁰. Özellikle CD44v9'un mide mukozasında proliferatif aktivite ve ki-67 ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

CD44 meme kanseri başta olmak üzere, pankreas, prostat, ve kolonda kanser kök hücre işaretçisi olarak tanımlanmıştır^{143,172-175}. Mide kanserinde CD44 ile yapılan ilk çalışma 1993 yılında Mayer ve arkadaşları tarafından yapılmış olup, CD44 ekspresyonu rekürrens, metastaz ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur¹⁰. Son yıllarda mide kanserinde de yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır ve prognoza etkisi tartışmalıdır^{171,176-178}.

9.3.2. CD133

CD133 de CD44 gibi bir transmembran glikoprotein olup, ilk olarak insan hematopoetik kök hücresinde bir yüzey işaretçisi olarak tanımlanmıştır. Diğer adı prolaminindir.

Hematopoetik hücrelerin yanısıra, insan vücudunda böbrek, karaciğer gibi birçok normal dokuda kök hücre işaretçisi olduğu kanıtlanmıştır^{179,180}. CD133 kanser kök hücresi işaretçisi olarak ilk kez pediatrik beyin tümörlerinde tanımlanmıştır⁶. Ricci ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, izole edilen 100 adet CD133+ tümör hücresinin immün yetmezliği olan farelere enjekte edildiği zaman, orijinal tümörünün bir kopyasını oluşturdukları görülmüştür¹⁸¹. Son yıllarda, mide kanserinde CD133 ile yapılmış çalışmalar mevcuttur^{148,182}. Yakın zamanda Hashimoto ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, mide kanserinde CD133 ün iki farklı boyanma paternine sahip olduğu gösterilmiş; sitoplazmik boyanan tümörlerin, luminal boyananlara göre daha sık lenf nodu metastazı, peritoneal yayılım ve vasküler invazyon yaptığı bildirilmiştir¹⁸³. Jiang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, CD133 pozitif kanserlerin çoğunlukla kötü differansiye olduklarını göstermişlerdir. Ancak Fukamachi ve arkadaşları bu tümörlerin iyi diferansiye bez yapıları oluşturan tümörler olduğunu bildirmişlerdir^{152,164}.

CD133 son yıllarda yapılan birçok çalışmada hem mide kanserlerinde hem de diğer organların kanserlerinde ekspresyonu kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir¹⁸⁴⁻¹⁸⁶.

9.3.3. ALDH-1

ALDH-1'in retinoik asit biyosentezi, etanol ve alkilleyici ajanların metabolizmasında görevli olduğu bilinmektedir. Retinoik asit hücre yenilenmesi ve differansiyasyonunda görevli olduğu için sentezinde rolü olan ALDH-1 özellikle kök hücre özellikleri ile ilişkilendirilmiştir¹⁸⁷. Deng arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı çalışmada ALDH-1 ekspresyonunun birçok normal dokuda bulunduğu gösterilmiştir.

Buna çalışmaya göre normal dokulardaki ALDH-1 ekspresyonu üç gruba ayrılmıştır. 1.Ekspreyon yok (meme ve akciğer) 2.Ekspreyon zayıf (mide ve kolon) 3.Ekspreyon kuvvetli ve yaygın (karaciğer ve pankreas). Bu doğrultuda ALDH-1 ekspresyonunun kuvvetli ve yaygın olmadığı dokularda (meme, mide, kolon gibi) bir kök hücre işaretçisi olarak kullanılabilceği düşünölmüştür¹⁸⁸.

Yapılan çalışmalarda ALDH-1 in hemopoitik, nöral, meme ve prostat gibi birçok dokuda bir kök hücre işaretçisi olduğu gösterilmiştir. Artmış ALDH-1 ekspresyonu kolon, ürotelyal, pankreas, meme ve overin seröz karsinomunda kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur^{14,16,189}. ALDH-1 ilk kez Katsuno ve arkadaşları tarafından gastrik hücre kültürlerinde, kanser kök hücre işaretçisi olduğu gösterilmiştir¹⁹⁰. Mide kanserinde Aldh-1 ile yapılmış sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

9.3.4. Nestin

Nestin hücre iskeletini oluşturan bir protein olup, embriyogenezde en fazla beyin dokusunda bulunduğu gösterilmiştir¹⁹¹. Yetişkinlerde beyin ve kas dokusunda hasara ikincil arttığı bulunmuştur^{107,192}. Çeşitli çalışmalarda pankreas, prostat, meme ve mide kanserinde bir kanser kök hücre işaretçisi olarak tanımlanmıştır^{177,193-195}.

9.3.5. Musashi-1

Musashi-1 ilk kez Good ve arkadaşları tarafından 1998'de tanımlanmış RNA'yı bağlayan bir proteindir. Merkezi sinir sistemi kök hücrelerinde varlığı gösterilmiş ve sonrasında gliom ve melanomlarda ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir¹⁹⁶⁻¹⁹⁸. Yakın zamanda mide kanserinde de yapılmış çalışmalarda karsinogenezde rolü olabileceği düşünölmektedir¹⁵⁷.

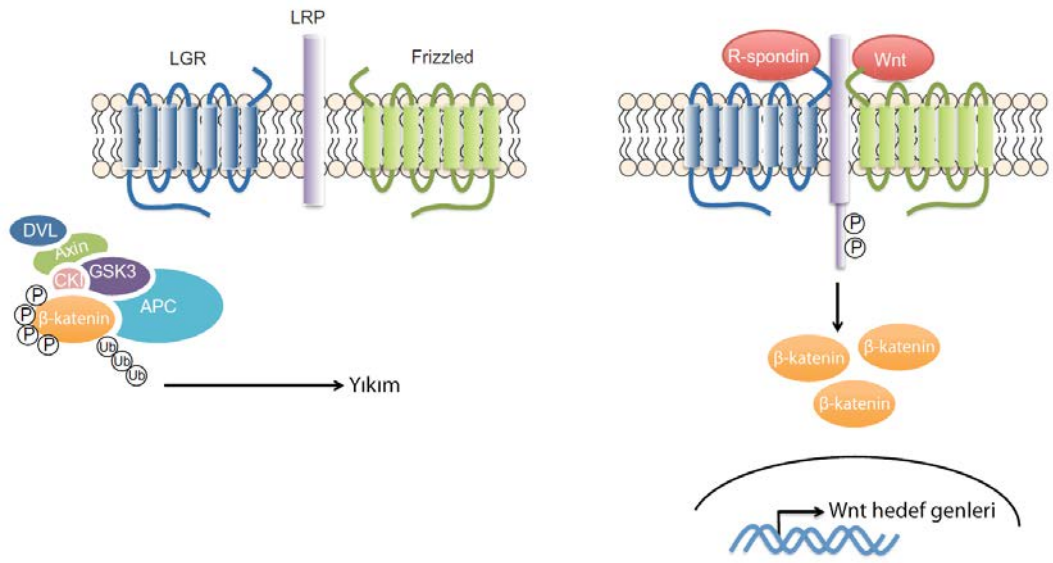
9.3.6. Lgr5

Lgr5 (GPR49), G proteini ile eşli bir reseptördür (Şekil 8). Lösin aminoasidinden zengin tekrarlar içerir. G proteini ile eşleşmiş reseptörler hücre membranını kate-

den reseptörlerdir. Hücre dışında ligandının bağlandığı bir kısım, hücre içinde ise reseptöre bağlanan bir G proteinini vardır. Bu G proteinleri, hücre içi birçok sinyal iletim yolağında görevlidir¹⁹⁹.

Lgr4 ve Lgr5 (GPR48 ve GPR49), LHR ve FSHR gibi hormon reseptörlerine benzer şekilde glikoprotein yapıdadır. LHR ve FSH hormon reseptörleri dokuz lösin tekrarları içerirken GPR'ler on yedi lösin tekrarı içerir.

Uzun süre Lgr4-5-ve 6'nın fonksiyonları ve ligandları bilinmediği için yetim reseptörler olarak adlandırılmışlardır (*orphan receptor*). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, Lgr5 reseptör ligandının R-spondin olduğu bulunmuş ve Wnt yolağının bir hedefi olduğu gösterilmiştir²⁰⁰⁻²⁰². Bu yolda Lgr5 in özellikle LRP-Frizzled reseptörü ile ilişkili olduğu, bu reseptör kompleksini etkileyerek beta katenin yıkımını azalttığı, biriken beta kateninin de hücre çekirdeğine giderek geniş bir yelpazedeki hedef genlerin ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir .



Şekil 8. Lgr5 sinyal iletim yolu¹⁹⁹

Lgr5'in meme, böbrek, saç folikülü, kolon gibi organların gelişiminde rol oynayan bir kök hücre işaretçisi olduğu gösterilmiştir²⁰³⁻²⁰⁵. Sato ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tek bir Lgr5+ hücrenin invitro olarak barsak benzeri yapı (mini gut) oluşturabildiği gözlemlenmiştir²⁰⁶. Kolon kanserlerinden hazırlanan

hücre kültürlerinde Lgr5+ hücrelerin hücre kolonisi görünümü (sferül) aldığı, kolorektal kanser dokusunda invazyon sahasına dağıldıkları gösterilmiştir.

Barker ve arkadaşların yaptığı çalışmalarda, Lgr5 ekspresyonunun gastrointestinal sistemde ince ve kalın barsakta kript tabanı ile sınırlı olduğu gösterilmiştir ve Lgr5'in barsak kök hücrelerini tespit etmede yeni bir işaretçi olduğu belirtilmiştir²⁰⁷. Sonrasında aynı grubun 2010 yılında yaptığı çalışmada; midede, Lgr5+ hücrelerin fizyolojik olarak pilor bezlerinde bulunduğu, epitel hücrelerinin yenilenmesi ile ilişkili olduğu, Lgr5+ kök hücrelerin kanser gelişimini tetikleyebildiği gösterilmiştir¹¹. Quante ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kardiyadaki Lgr5+ hücrelerin Barret ve displazi gelişiminde progenitör hücre olarak fonksiyon gösterdiği ileri sürülmüştür²⁰⁸.

2012 yılında Simon ve arkadaşlarının 100 mide kanseri olgusunu kapsayan çalışmasında mide kanser ve non-neoplastik dokuları incelenmiştir. Lgr5+ hücrelerin normal dokularda boyun bölgesinde, intestinal metaplazide kript tabanlarında, karsinomda ise lümeneye yakın veya invazyon alanında buldukları gösterilmiştir. Ayrıca kanser dokusunda, non-neoplastik dokulara göre atmış Lgr5 immünekspreyonu saptanmıştır¹². Tüm bu özellikleri dikkate alındığında Lgr5'in gastrointestinal sistemde uygun bir kök hücre işaretçisi olabileceği düşünülmektedir. Ancak Lgr5 ile mide kanserinde yapılmış çalışma sayısı sınırlı olup, mide karsinogenezindeki rolü etraflıca incelenmemiştir.

Lgr5 aşırı ekspresyonunun hepatosellüler karsinomda²⁰¹, kolorektal karsinomda^{209,210}, özofagus adenokarsinomlarında²¹¹, over kanserleri²⁰⁹ ve derinin bazal hücreli karsinomunda²¹² görüldüğünü bildiren çalışmalar mevcuttur. Ryugue ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptığı çalışmada akciğer adenokarsinomlarında Lgr5 ekspresyonu ileri evre, büyük tümör çapı ve kısa sağkalım süresi ile ilişkili bulunmuştur²¹³. 2012 yılında Simon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mide adenokarsinomlarında yine kötü sağkalım ile ilişkisi gösterilmiştir¹².

Tablo 7. CD44 ve CD133'ün literatürdeki yeri

Organ	İşaretçi	Çalışma
Meme	CD44	Al Hajj ve ark. ¹⁴³
Akciğer	CD133	Eramo ve ark. ²¹⁴
Beyin	CD133	Singh ve ark. ⁶
Mide	CD44	Takaishi ve ark. ⁸
Karaciğer	CD133	Kordes ve ark. ¹⁸⁰
Pankreas	CD44	Lee ve ark. ²¹⁵
Kolon	CD133	Ricci-Vitiani ve ark. ¹⁸¹
Prostat	CD44	Patrawala ve ark. ¹⁷²
Melanom	CD133	Thill ve ark. ¹⁹⁷

9.4. Kök Hücrelerde Sinyal İletim Yolları

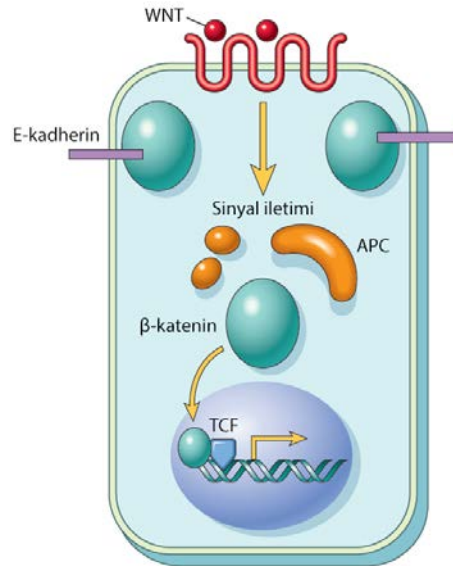
Kanser kök hücrelerinin de, normal kök hücrelerin sinyal iletim yollarını taşıdıklarını gösteren çok sayıda çalışma vardır. Bu yolların midedeki karsinogenezi ve kanser kök hücrelerinin sürekli bölünmesini tetikleyip sürdürdüğü düşünülmektedir. Mide kanseri kök hücreleri sinyal iletim yolları arasında Wnt, Hedgehog, Notch ve BMP vardır¹³⁴.

9.4.1. Wnt/β-katenin sinyal iletim yolu

Wnt, hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanarak mide epitelinin gelişimini ve devamlılığını sağlayan bir glikoproteindir (Şekil 9). Bozuk Wnt aktivasyonunun, kök hücrelerdeki bölünmeyi etkileyerek tümör oluşumunu tetiklediği gösterilmiştir²¹⁶. Aşırı β-katenin ekspresyonunun görüldüğü kolon kanser kök hücrelerinin, düşük β-katenin ekspresyonu gösteren kanser kök hücrelerine kıyasla, daha yüksek tümör oluşturma potansiyelinin olduğu tespit edilmiştir²¹⁷. β-katenin'i kodlayan genin ablasyonu sonucu, deri kanseri kök hücrelerinin ortadan kalktığı ve farelerde oluşturulan tümör dokusunun gerilediği görülmüştür²¹⁸.

Fare ve insan mide kanseri kök hücreleri üzerinde yapılan çalışmalarda da, Wnt sinyal iletim yolu bozukluğu gösterilmiştir. Oshima ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Wnt sinyal iletiminin, farelerdeki mide bezlerinin istmus'undaki progenitör hücrelerin, farklılaşmamış halde kalmasından sorumlu olduğu ve Wnt ve prostoglandin E₂ yolaklarının aynı anda aktivasyonunun, mukus bezlerinde metaplaziye yol açtığı tespit edilmiştir²¹⁹. Diğer bir çalışmada ise, normal fare midesinin skuamo-kolumnar bileşkesindeki bezlerde, CD44+ kök hücre benzeri ve yavaş bölünen hücrelerin bulunduğu; Wnt ve prostoglandin E₂ aktivasyonunun, bu hücrelerin proliferasyonuna yol açarak karsinogenezi başlattığı görülmüştür.²²⁰ Cai ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada, Wnt sinyal iletim yolunun inhibisyonunun, küre morfolojisi oluşturan mide kanseri hücrelerinin kendilerini yenileme kapasitesini azalttığı, ve bu yolağın bir aktivatörünün bunu geri çevirdiği tespit edilmiştir²²¹.

Bütün bu veriler ışığında, Wnt sinyal iletim yolunun, mide kanseri kök hücrelerinde, özellikle de bu hücrelerin kendilerini yenilemesinde, önemli bir rolü olduğu söylenebilir.



Şekil 9. Wnt/β-katenin sinyal iletim yolu²²²

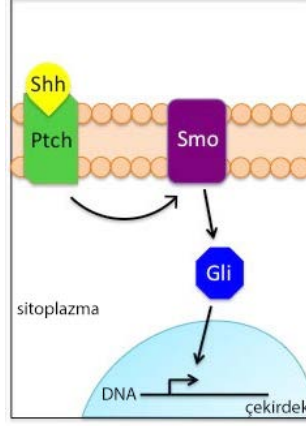
9.4.2. Hedgehog sinyal iletim yolu

Hedgehog yolağı, gastrointestinal sistemin organogenezi ve mide asidi sekresyonu gibi fizyolojik süreçlerde etkili olduğu gibi, neoplazi gelişiminde de rol alır²²³. Bu sinyal iletim yolunun üç ligandı arasında, en çok sonic hedgehog'un (SHH) mide bezlerinin kök hücre alanında ekspresyonunun artıp, bezlerin tabanına ilerledikçe ekspresyonunun azaldığı görülmüştür (Şekil 10). Bu durum, SHH'nin mide bezi morfogenezi ve mide mukozasının devamlılığında görev aldığını göstermektedir²²⁴.

Mide kanserinde Hedgehog sinyal iletim yolunda bozuklukların olduğunu gösteren, son yıllarda yapılmış pek çok çalışma vardır. Ohta ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, mide kanseri dokuları ve hücre kültürlerinde SHH ekspresyonunun arttığı, ve SHH'nin, *glioma-associated oncogene 1* (Gli1) aracılığıyla p21/CIP'i inhibe ettiği ve bu sayede hücre proliferasyonunu ve tümör dokusunun büyümesini sağladığı tespit edilmiştir²²⁵. 2006'da Fukaya ve 2007'de Lee ve arkadaşlarının yaptığı iki çalışmada, Hedgehog sinyal iletim yolunun aşırı aktivasyonunun, mide kanserinde kötü diferansiyasyon ve prognozla ilişkili olduğu görülmüştür^{226,227}.

Mide kanseri hücre kültüründen elde edilen CD44+/CD24+ hücrelerde, CD44-/CD24- hücrelere kıyasla, Hedgehog sinyal iletim proteinleri olan SHH, PTCH1 ve GLI1 ekspresyonunun arttığı görülmüştür¹⁶². Song ve arkadaşlarının 2011'de yaptıkları bir çalışmada, hücre kültüründen elde edilen, küre morfolojisi oluşturan hücrelerde PTCH1 ve GLI1 ekspresyonunun arttığı, ve bu hücreler immün yetmezlikli farelere nakledildiği zaman, bitişindeki hücrelere kıyasla, daha yüksek tümör oluşturma potansiyeline sahip oldukları tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, küre morfolojisi oluşturan mide kanseri hücrelerinde ve primer mide dokusunda siklopamin veya 5E1 aracılı SHH inhibisyonunun, *in vitro* hücre yenilenmesini azalttığı, ve hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak kemoterapi ilaçlarının etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir²²⁸.

Sonuç olarak, Hedgehog sinyal iletim yolu, ve özellikle de bu yolağın SHH ligandı ekspresyonundaki artış, kendini yenileme, proliferasyon, tümör oluşturma ve ilaç direnci gibi kök hücre özelliklerinin devamlılığında rol oynamaktadır.



Şekil 10. Hedgehog sinyal iletim yolu¹³⁴

9.4.3. Notch sinyal iletim yolu

Notch yolağı, fizyolojik olarak kök hücrelerin kendilerini yenilemesinden, olgun hücre tiplerine diferansiyasyonundan, ve yetişkin hücre homeostazından sorumludur. Fare midesinde, Notch sinyal iletim yolunun aktivasyonu, mide bezlerinin gelişiminde rol oynar. Yetişkin mide bezlerindeki etkinliği ise yalnız istmustaki progenitör hücrelerde görülür. Ayrıca, bu yolağın aktivasyonu, olgun mide epitel hücrelerinin, multipotent progenitör ve/veya kök hücrelere dediferansiyasyonuna da yol açar²²⁹.

Mide kanseri patogenezinde, kronik *H. pylori* enfeksiyonunun Notch sinyal iletimini indüklediği; mide kanseri hücre kültürlerinde ve primer mide kanseri dokusunda hem Notch ligandlarının hem de Notch reseptörlerinin ekspresyonunun arttığı görülmüştür²³⁰.

Yeh ve arkadaşlarının 2009'da yaptıkları çalışmada, bir Notch ligandı olan Jagged1 ekspresyonunun, agresif mide kanseriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir²³¹. Tseng ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada ise, Notch1 ve Notch2 aktivasyonunun, hem *in vitro* hem de *in vivo* tümör oluşumunu sinerjistik bir şe-

kilde arttırdığı, ve siklooksijenaz (COX)-2 ekspresyonuna bağlı olarak, mide kanseri hücrelerinin migrasyon ve invazyonunda rol oynadığı gösterilmiştir²³². Hsu ve arkadaşlarının 2012'de yaptıkları çalışmada da, Notch1 ve STAT3/Twist yolakları arasında etkileşimin, mide kanseri hücrelerinin koloni oluşumunu, migrasyonunu, invazyonunu, tümör büyümesini, ve akciğer metastazını arttırdığı görülmüştür²³³.

Meme ve kolon kanserlerinde, embriyonik beyin tümörlerinde ve glioblastomlarda, Notch sinyal iletiminin kanser kök hücreleriyle ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Mide kanseri kök hücrelerinde Notch sinyal iletimini inceleyen çalışmalar henüz çok az sayıdadır. 2014 yılında Ma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, atrastiolenolid-I maruziyetinin, Notch sinyal iletim yolunu inaktive ederek, mide kanseri kök hücresi benzeri hücrelerde küre oluşumunu ve hücre ömrünü azalttığı görülmüştür²³⁴.

9.4.4. BMP sinyal iletim yolu

BMP, TGF- β ailesinin bir üyesi olup, bağırsak morfogenezinde, hücre diferansiyasyonunda ve homeostazında görev alır. BMP yolağı, fare midesinde hücre proliferasyonunu azaltır ve hücre diferansiyasyonunu tetikler²³⁵. Mide kanseri hücre kültürlerinde ve mide kanseri dokusunda, *BMP2* geninin aşırı metilasyonu, BMP2 kaybına yol açarak neoplastik süreçte rol oynar²³⁶. Başka çalışmalarda da, *BMPRIA* geni inaktivasyonu ve *SMAD4* mutasyonu ile BMP sinyal iletim yolu inaktive edilmiş farelerde, mide epitel geçiş bölgelerinde neoplastik lezyonların gelişimini tetiklediği gösterilmiştir. Park ve arkadaşlarının 2010'da yaptıkları çalışmada, BMP2 ekspresyonunun, mide kanseri hastalarında tümör progresyonu ve metastazla ilişkili olduğu görülmüştür²³⁷. Zhang ve arkadaşlarının 2012'de yaptıkları bir çalışmada ise, BMP2'nin, p21 ekspresyonunu arttırarak ve CDK4 ekspresyonunu azaltarak, sıçan ve insan mide kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir²³⁸.

BMP2 dışında, BMP4 ve BMP7 de mide kanseri gelişiminde rol alır. Aoki ve arkadaşlarının 2011’de yaptıkları bir çalışmada, mide kanserindeki BMP7 ekspresyonu ile tümör boyutu, nodal yayılım, lenfovasküler invazyon ve histolojik tip ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada, BMP7 pozitif olguların sağ kalım süresinin, BMP7 negatif olgulara göre çok daha kısa olduğu görülmüştür²³⁹.

Prostat, meme, over kanserleri ve glioblastom kanser kök hücrelerinde BMP sinyal iletiminin rolü hakkında çalışmalar varsa da; henüz bu yolağın mide kanseri kök hücrelerindeki rolünü inceleyen bir çalışma yoktur. Notch sinyal iletimi gibi, BMP sinyal iletiminin mide kanseri kök hücrelerindeki potansiyel rolünü araştırarak çalışmalar, mide kanseri patogenezi aydınlatmada önemli bir yere sahip olacağı düşünülmektedir¹³⁴.

9.5. Kök Hücrelerin Bulunduğu Ortam (Niche)

Kelime olarak “niche” (niş), ‘bir duvardaki oyuk’ anlamına gelir. Bu terim, tümör hücrelerinin bulunduğu uygun mikro-ortam için kullanılır. Mide dokusu, hem normal kök hücreler, hem de kanser kök hücrelerinin proliferasyonu için bir niş’tir. Mide bezlerinin istmus’unu çevreleyen hücreler, kök hücrelerin proliferasyonu ve diferansiyasyonu için uygun ortam oluştururlar. Aynı hücreler, kanser kök hücrelerinin proliferasyon ve diferansiyasyonunu düzenler ve onları toksik maddelerin maruziyetinden koruyarak, kemoterapi ilaçlarına karşı direncin gelişmesinde rol oynarlar. Sonuç olarak, uygun ortamın olup olmamasına bağlı olarak, bir tümör dokusundaki hücreler, kök hücre özelliklerini kazanıp kaybedebilirler. Mide dokusundaki niş son derece karmaşık olup, mezenkimal hücrelerden, bağışıklık sistemi hücrelerinden, damar ağından, hücre dışı matriksten ve buraya salgılanan moleküllerden oluşmuştur²⁴⁰ (Şekil 11).

Kemik iliğinden köken alan myofibroblastlar, mide niş’inin önemli bir parçası olup, mide karsinogenezinde rol oynar. Kemik iliği nakli deneyi yapılan farelerde, mide myofibroblastlarının kemik iliğinden köken aldığı görülmüştür. Ayrıca,

tümör hücreleri tarafından aktive edilen myofibroblastlardaki artmış vasküler endotelyal büyüme faktörü ekspresyonunun, mide kanserlerinde görülen anjiyogenezden sorumlu olabileceği düşünülmektedir²⁴¹. Worthley ve arkadaşlarının 2009'da yaptıkları bir çalışmada, insanlarda allojenik kemik iliği naklinden sonra, mide kanseri zemininde, kemik iliğinden köken alan hücrelerin tümör dokusunda myofibroblast oluşturdıkları tespit edilmiştir²⁴². Quante ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada da, inflamasyonun tetiklediği mide karsinogenezinin erken basamakları sırasında, myofibroblastların kanda ve nişte çoğaldıkları ve sonra tümör kitlesine göç ederek, TGF- β ve SDF-1 α aracılığıyla tümör dokusunun içinde kanser gelişiminin ilerlemesi için uygun bir ortam oluşturduğu gözlemlenmiştir. Aynı grubun 2012'de yaptıkları bir çalışmada ise, gastrit ve displazi gelişiminden daha önce, aşırı SDF-1 ekspresyonunun, *H. felis* enfeksiyonu ile sinerjistik olarak, kemik iliğinden köken alan hücrelerin mide kanseri niş'ine kemotaksisini sağladığı ve böylece karsinogenez için uygun bir ortamın oluştuğu tespit edilmiştir²⁴³.

Bütün bu veriler ışığında, kemik iliğinden köken alan myofibroblastların mide kanseri kök hücreleri için uygun bir ortam oluşturduğu ve bu nedenle tedavi için uygun hedef olabileceği söylenebilir.

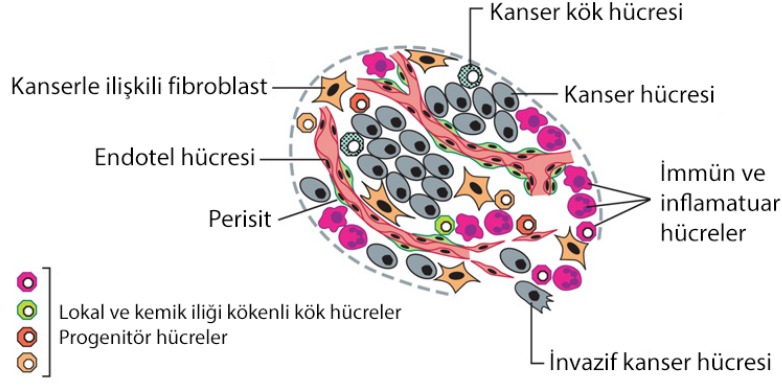
Hipoksi, mide kanseri kök hücresi niş'indeki önemli faktörlerden biridir. Glioma, glioblastoma, over, prostat ve kolon kanseri gibi solid organ malignitelerinde kanser kök hücrelerinin farklılaşmadan kalıp kendilerini yenilemelerinde hipoksinin rol oynadığı düşünülmektedir. Hipoksi nedeniyle sentezlenen HIF-1 α (*hypoxia-induced factor-1 α*), mide kanseri hücrelerinde ilaç taşıyıcı proteinlerin ekspresyonunu arttırarak ve ilaca bağlı apoptozu engelleyerek, kemoterapi ilaçlarına karşı oluşan dirençte rol oynar²⁴⁴. Ayrıca, akut ve kronik hipoksi, hücre döngüsünü durdurarak, radyoterapiye karşı direnç gelişmesine neden olur²⁴⁵.

Mide kanseri nişinin düzenleyici faktörlerinden biri, bir tümör süpressör protein olan TGF-β'dır. Katsuno ve arkadaşlarının 2012'de yaptıkları çalışmada, diffüz tip mide kanserlerinden izole edilen ALDH1+ hücrelerinde, TGF-β'nin ALDH1 ve REG4 ekspresyonunu azalttığı ve ALDH1+ ekspresyonunun, TGF-β sinyal iletiminde rol alan Smad3'ün fosforilasyonu ile ters korele olduğu tespit edilmiştir¹⁹⁰.

“Vasküler niş” olarak da bilinen tümör neovaskülarizasyonunun, kanser kök hücrelerinin kendilerini yenilemesinden ve tümör boyutlarının büyümesinden sorumlu olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Kanser kök hücrelerinin kendileri de, salgıladıkları pro-anjiyogenetik faktörler (örneğin VEGF) yoluyla, vasküler nişin devamlılığını sağlarlar²⁴⁶. Suzuki ve arkadaşlarının 2010'da yaptıkları çalışmada, mide kanserinde VEGF ekspresyonunun, progresyon, invazyon ve metastazla ilişkili olup sağkalımı azalttığı gösterilmiştir²⁴⁷.

Kanser kök hücrelerinden salgılanan çeşitli faktörler, tümör hücrelerini değişime uğratarak (*transdifferentiation*), onları endotel ve düz kas benzeri kan damarını çeperini döşeyen hücrelere dönüştürür. Bu sürece vaskülojenik taklit (*vasculogenic mimicry*) denir²⁴⁸. Bu sayede, geleneksel tümör neovaskülarizasyonundan bağımsız olarak, tümör kitlesi beslenebilir. Vaskülojenik taklidin, anti-anjiyogenik tedaviye dirençten kısmen sorumlu olduğu düşünülmektedir²⁴⁹.

2010 yılında Li ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, vaskülojenik taklidin özellikle kötü diferansiye mide adenokarsinomlarında görüldüğü, hematojen yolla metastaz, rekürrens ve kötü sağkalımla ilişkili olduğu tespit edilmiştir²⁵⁰. Bu veriler ışığında, yukarıda da bahsedilen hipoksinin vaskülojenik taklidin gelişiminde rol oynadığı düşünülebilir.



Şekil 11 Kök hücrelerin bulunduğu ortam (*niche*)²⁵¹

9.6. Kök Hücrelerinin Tedavideki Yeri

Kanser kök hücresi teorisinin varsayımlarından biri, istirahat halinde bulunan kanser kök hücrelerinin, anti-proliferatif olan kemoterapi ilaçlarına karşı dirençli olmalarıdır. Bu yüzden son yıllarda kanser tedavisi araştırmalarının odağı, kanser dokusundaki bütün hücreleri ayırt etmeksizin öldüren kemoterapi ilaçlarından kanser kök hücrelerini hedef alan tedavilere kaymıştır²⁵². Yeni geliştirilen bu tedaviler başlıca şunlardır:

(1) Wnt, Hedgehog, Notch ve BMP gibi sinyal iletim yollarını hedef alan tedaviler: Bu yolları inhibe eden ilaçlar, kanser kök hücrelerinin kendilerini yenileme kapasitelerini azaltırlar.

(2) Kanser kök hücrelerinin üzerindeki spesifik antijenleri hedef alan monoklonal antikolar: Bu antikolar yoluyla, hem moleküler görüntüleme yöntemlerinde kullanılarak erken teşhis, hem de tümörü oluşturan hücreleri hedef alarak daha iyi klinik sonuçlar elde etmek hedeflenmektedir.

(3) Kanser kök hücrelerinde DNA tamirini, anti-apoptotik ve ABC taşıyıcı protein ekspresyonunu azaltan tedaviler

(4) “Uyan ve öldür” (*wake up and kill*) yaklaşımı: Bu yaklaşımda hedef istirahat halindeki kanser kök hücrelerini aktif hale getirerek, kemoterapi ilaçlarına duyarlı hale getirmektedir.

(5) Kanser kök hücrelerinde epitelyal-mezenkimal dönüşümü tetiklemek: Amaç bu hücrelerin olgun hücelere dönüşümünü sağlamak ve böylece kanser kök hücre proliferasyonunu azaltmaktır.

Normal kök hücreleri hedef almadan, yalnızca kanser kök hücrelerini ortadan kaldıran kemoterapi ilaçları, tümör eradikasyonu için ideal bir tedavi yöntemi olarak düşünülmektedir. Bu ideal ilaçların geliştirilmesinde, kanser kök hücrelerine özgü hedeflerin belirlenmesi son derece yararlı olacaktır^{134,248}.

Ayrıca, bahsedildiği gibi, kanser kök hücreleri ile bu hücrelerin buldukları ortam arasındaki etkileşim, tümörün biyolojik davranışı açısından önemlidir. Bu sebeple, kanser kök hücrelerinin içinde buldukları ortamı hedef alan anti-anjiyogenik ve anti-stromal tedaviler, kanser kök hücrelerinin ortadan kaldırılmasını sağlayarak daha etkili bir kanser tedavi seçeneği olacaktır.

10. ÇALIŞMANIN AMACI

Kanser kök hücre teorisine göre, tümör kitlesi içinde, kendini yenileyebilen ve diğer kanser hücrelerine farklılaşabilen az sayıda kanser kök hücresi olduğuna inanılmaktadır. Bu hücrelerin, büyük olasılıkla, normal doku kök hücrelerinden ya da progenitör hücrelerden geliştiği düşünülmektedir¹³⁴.

Bizim bu çalışmadaki amaçlarımız kök/progenitör hücrelerin;

1. Mide kanserindeki varlığını ve dağılımını belirlemek,
2. Klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini incelemek,
3. Sağkalım üzerine etkisini değerlendirmek,
4. Karsinogenez sürecindeki rolünü araştırmaktır.

11. MATERYAL VE METOD

11.1. Etik Kurul Onayı

83 protokol numaralı projemiz, “27.06.2014-12” onay tarihi ve onay sayısı ile Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

11.2. Olgu Seçimi

Çalışmamıza, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde 2012 ve 2013 yıllarında gastrektomi uygulanmış ve adenokarsinom tanısı almış 153 olgu alınmıştır. Olgulara ait klinik dosya verileri ve patoloji raporları gözden geçirilmiş, tümör ve tümör çevresi lamaları patoloji arşivinden çıkarılarak yeniden değerlendirilmiştir.

11.3. Klinik ve Histopatolojik Veriler

Değerlendirilen klinik ve histopatolojik veriler Tablo 8’de özetlenmiştir.

11.3.1. Klinik veriler

11.3.1.1. Yaş ve cinsiyet

Hasta dosyasındaki veriler göz önünde bulundurulmuştur.

11.3.2. Klinik izlem verileri

Olgulara ait cerrahi öncesi/sonrası tedavi ve sağkalım verileri, hastanın genel cerrahi takibinden elde edilmiştir.

11.3.3. Histopatolojik veriler

11.3.3.1. Tümör – Çap ve Yerleşim

Patoloji raporu göz önünde bulundurulmuştur.

Gastroözofageal bileşke ve kardiyada yerleşen tümörler proksimal, korpus ve ant- rumda yerleşen tümörler distal olarak gruplandırılmıştır.

11.3.3.2. Tümör – Histolojik Tip

Olgular 1965 Lauren sınıflaması göz önüne alınarak; intestinal, diffüz, mikst tip olarak gruplandırılmıştır²⁵³. College of American Pathologists (CAP) protokolünde, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflaması kriterine göre, diffüz komponentin tümörün % 80'inden fazlasını oluşturduğu olgular, diffüz tip olarak kabul edilmiştir²⁵⁴. Tümörün % 20-50'sini diffüz komponent oluşturan tümörler mikst tip olarak sınıflanmıştır.

11.3.3.3. Tümör – Derecelendirme (Grade)

Tümörler, düşük derece ve yüksek derece olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Diffüz ve mikst tip olgular yüksek derece olarak değerlendirilmiştir. İntestinal olgular bez oluşturabilme oranlarına göre derecelendirilmiştir⁸⁶.

11.3.3.4. Tümör – Evreleme (Stage)

Evreleme, 2010 AJCC evreleme sistemine göre yapılmıştır¹¹². Tüm olgularda mide duvar yayılımı (T), lenf nodu metastazı (N) ve metastaz (M) olmak üzere üç komponent değerlendirilmiştir..

Mide duvarı yayılımı (T): Tümör bloklarından elde edilen kesitlerde, mide duvar yayılımı, en derin invazyon katmanına göre belirlenmiştir. T kategorisinde olgular erken T (T1+T2) ve ileri T (T3+T4) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

Lenf nodu metastazı (N): N0, N1, N2, N3 olarak değerlendirilmiştir.

Evre: Olgular erken evre (Evre I ve Evre II), ileri evre (Evre III ve Evre IV) olarak sınıflandırılmıştır.

11.3.3.5. Tümör – Perinodal yayılım

Patoloji raporu göz önünde bulundurulmuştur.

11.3.3.6. Tümör – Lenfatik, vasküler ve perinöral invazyon

Patoloji raporu göz önünde bulundurulmuştur.

11.3.3.7. Tümör – Stromal yanıt

Tümör çevresi desmoplastik ve lenfositik yanıt, ayrı ayrı; yok (0), hafif (1), orta (2), kuvvetli (3) olarak değerlendirilmiştir.

11.3.3.8. Tümör çevresi gastrik mukoza – *H. pylori*

Var/yok olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 8. Klinikopatolojik parametrelerin değerlendirilmesi

Klinikopatolojik parametre	Değerlendirme
Yaş	Sayısal olarak değerlendirildi
Cinsiyet	Kadın/Erkek
Tümör çapı	Sayısal olarak değerlendirildi
Tümör lokalizasyonu	Proksimal/Distal
Histolojik tip	İntestinal/Diffüz/Mikst
Derece	Düşük/Yüksek
Evre	Erken/İleri
Mide duvarı yayılımı (T)	Erken/İleri
Pozitif lenf nodu sayısı (N)	N0/N1/N2/N3/
Perinodal yayılım	Var/Yok
Lenfatik invazyon	Var/Yok
Vasküler invazyon	Var/Yok
Perinöral invazyon	Var/Yok
Desmoplastik yanıt	Hafif/Orta/Şiddetli
Lenfositik yanıt	Hafif/Orta/Şiddetli
HP varlığı	Var/Yok

11.4. İmmunohistokimya (İHK)

Tüm olgularda tümörü en iyi temsil ettiği düşünülen, 134 olguda ise tümör çevresini en iyi yansıtan lamalar belirlenmiştir. Tümör (n=153) ve tümör çevresine (n=134) ait parafin blok/bloklardan elde edilen kesitlere CD44, ALDH-1 ve Lgr5 immünohistokimyası uygulanmıştır (Tablo 9).

Atipik/nöroendokrin morfoloji düşünülen tümörlerde ve tümör çevresinde displazi kuşkusu olan olgularda ek İHK uygulanmıştır (Tablo 10).

11.4.1. İHK – Uygulama yöntemi

Formalin fikse parafine gömülü dokularda, CD44 immünoekspresyonu, streptavidin biotin peroksidaz manuel immünohistokimya boyama yöntemi ile Lgr5 ve ALDH-1 immünoekspresyonu ise Leica Bond-Max immünohistokimya boyama cihazı ile gösterildi.

CD44 için uygulanan streptavidin-biotin-peroksidaz boyama yönteminde, parafine gömülü dokulardan, pozitif şarjlı lamalara 3µm kalınlığında kesitler alındı ve 37°C’ de 1 gece deparafinize edilerek ksilen ve etil alkol serilerinden geçirilerek hidrate edildi. Dokudaki endojen peroksidaz aktivitesi %3 H₂O₂ (metanolde) ile baskılandı. Distile su ile yıkanan kesitlere, maskelenen antijenleri açığa çıkarmak amacıyla pH 6 Sitrat Tampon çözeltisi ile mikrodalga fırında 400W güçte 20 dakika antijen geri kazanım işlemi uygulandı. Oda ısısında soğutulan lamalar pH 7,4 fosfat tampon çözeltisi ile (PBS) yıkandı ve non-spesifik boyanmayı engellemek için dokulara 10 dakika protein blokajı (SensiTek HRP Antipolyvalent Lab Pack, ScyTek Laboratories, US) yapıldı. Blokaj sonrasında, kesitlere kullanıma hazır CD44 (CD44 Std./ HCAM Ab-4 Clone 156-3C11, Thermo Scientific, UK) antikoru damlatılarak oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. PBS ile yıkama aşamasını takiben kesitlere önce biotinlenmiş sekonder antikor, ardından streptavidine peroksidaz (SensiTek HRP Antipolyvalent Lab Pack, ScyTek Laboratories, US) damlatılarak 10’ar dakikalık sürelerle inkübe edildi. Tekrar PBS ile yıkamanın ardından

kromojen olarak 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorid (DAB) kullanıldı. Distile su ile yıkanan kesitlere Mayer Hematoksilen ile nükleer zıt boyama yapıldı ve yükselen etil alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi.

Bond-Max immünohistokimya cihazı kullanılarak yapılan immünohistokimya boyama işleminde; önce kesitlere %3 H₂O₂ ile peroksidaz blokajı uygulandı, ardından 1:200 dilüsyon oranında Lgr5 (katalog no: PA5-27178 Thermo Scientific, UK) ve 1:100 dilüsyon oranında ALDH-1 (H-8, sc-166362, Santa Cruz Biotechnology) damlatılarak her biri 45 dakika süre ile inkübe edildi. Primer antikörlerin ardından cihazda post primer ve poly-HRP solüsyonları (Bond Polymer refine Detection Kit; DS9800, Leica) uygulandı. Görüntülemek amacıyla kromojen olarak DAB kullanıldı ve yine Mayer Hematoksilen ile nükleer zıt boyama yapılarak kesitler etanol serileri ile dehidrate edildi. Boyanan tüm lamalar kapatılarak ışık mikroskobu değerlendirmesine alındı.

Tablo 9. Çalışmada kullanılan İHK belirteçleri

Antikor	Marka	Klon	Dilüsyon	Uygulama
CD44	ThermoScientific	156-3C11	1:100	Kullanıma hazır kit, manuel uygulama
ALDH-1	Santa Cruz	sc-166362	1:100	Leica Bond-Max İHK cihazı
Lgr5	ThermoScientific	PA5-27178	1:200	Leica Bond-Max İHK cihazı

Tablo 10. Ek İHK boyaları

Ek İHK boyaları	
Atipik morfoloji	β-hCG, HepPar, Glipikan
Nöroendokrin morfoloji	Kromogranin, Sinaptofizin
Displazi	p53, Ki-67

11.4.2. İHK – İmmünekspresyonun değerlendirilmesi

11.4.2.1. Tümör

Adenokarsinom alanlarında CD44, ALDH-1 ve Lgr5 immünekspresyonu tüm olgularda (n=153) değerlendirilmiştir.

Adenokarsinom alanlarında, her üç İHK belirteci için, benzer immünekspresyon değerlendirme yöntemi uygulanmıştır. Neoplastik hücrelerde, orandan bağımsız herhangi bir boyanma, immünekspresyon pozitif olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, her olgu ve her belirteç için, adenokarsinom alanlarında boyanma şiddeti ve boyanma yüzdesi belirlenmiştir.

Boyanma şiddeti (0-3) ve boyanma yüzdesi (0-4) toplanarak her adenokarsinom olgusu için “**boyanma skoru**”(0-7) hesaplanmıştır²⁵⁵ (Tablo 11).

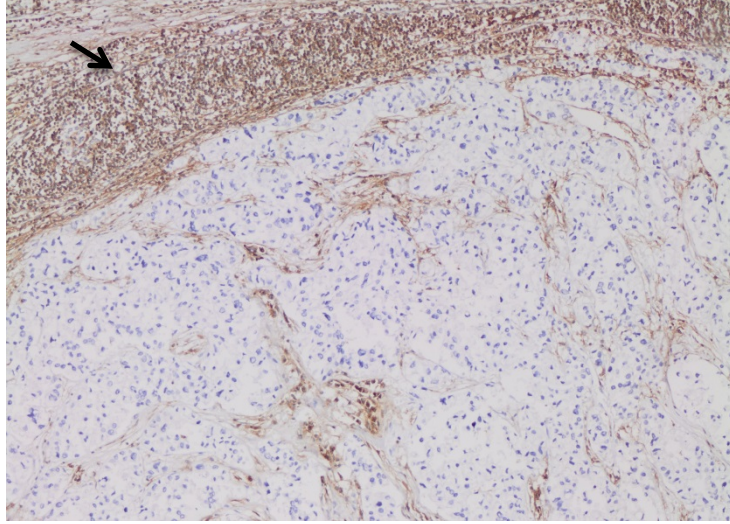
Tablo 11. Boyanma skoru hesaplanması

Boyanma şiddeti	Boyanmadı	Hafif	Orta	Şiddetli	
	0	1	2	3	
Boyanma yüzdesi	Boyanmadı	%1-10	%11-25	%26-50	>%50
	0	1	2	3	4

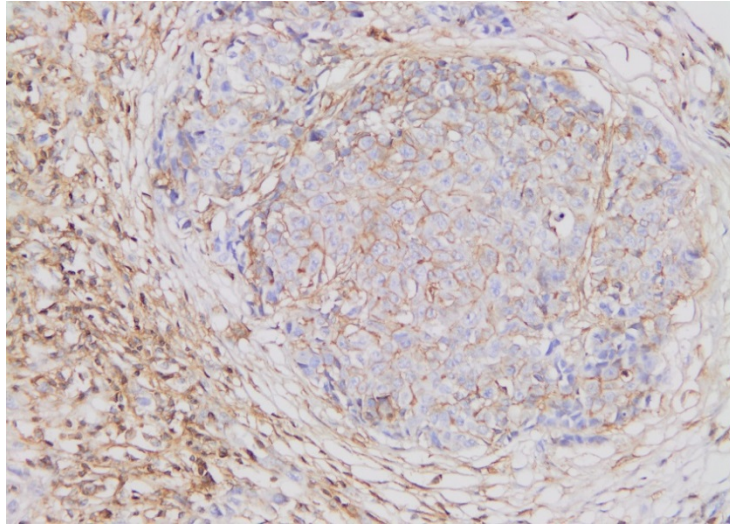
$$\text{Boyanma skoru} = \text{Boyanma şiddeti} + \text{Boyanma yüzdesi}$$

CD44

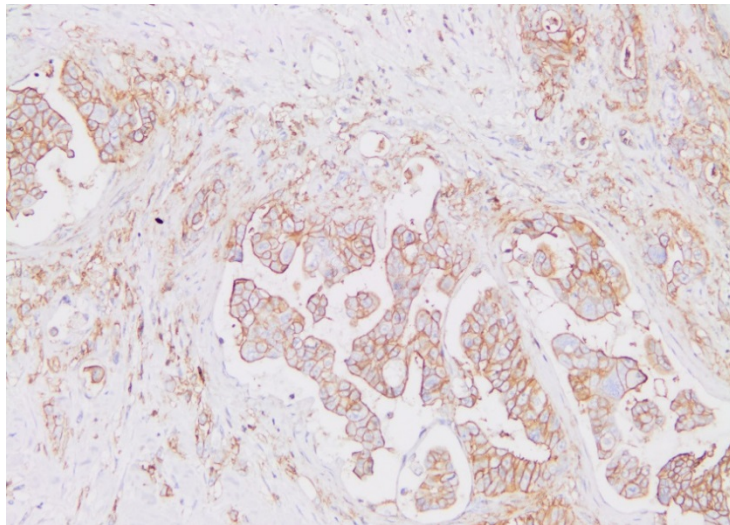
CD44'ün bir yüzey reseptörü olması nedeniyle, neoplastik hücrelerde görülen membranöz immünekspresyon pozitif boyanma olarak kabul edilmiştir. CD44 için, T lenfositler internal kontrol olarak kullanılmıştır. Neoplastik hücrelerdeki immünekspresyon şiddeti, T lenfositlerdeki boyanma şiddeti ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Boyanma şiddeti lenfositlere benzeyen CD44 immünekspresyonu 2+ olarak değerlendirilmiştir. CD44'ün boyanma şiddetinin değerlendirilmesine ait örnekler, Şekil 12–18'de verilmiştir.



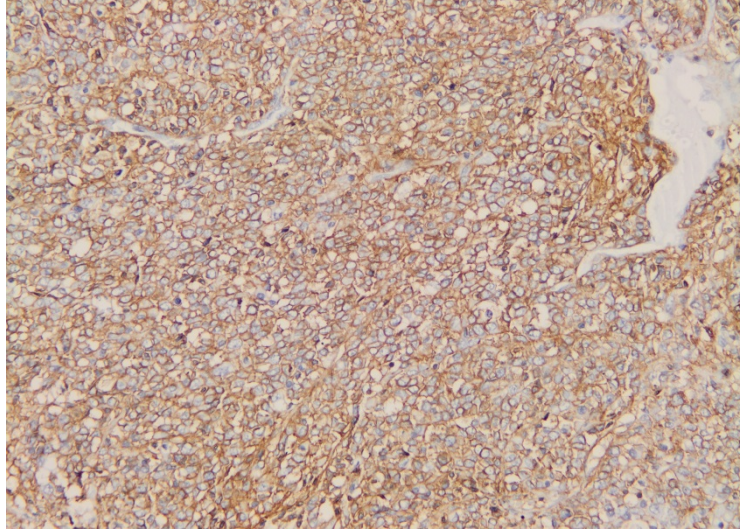
Şekil 12. İntestinal tip adenokarsinom, negatif CD44 boyanması (İHK, x20).
Ok: İnternal kontrol, lenfositler.



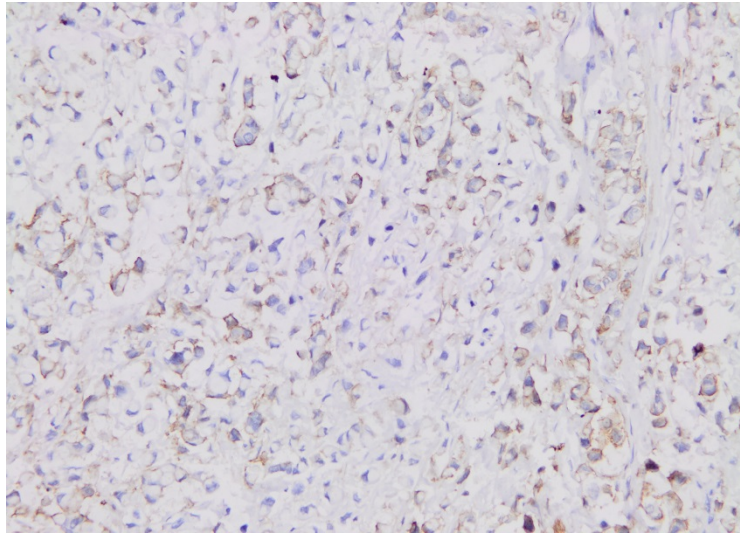
Şekil 13. İntestinal tip adenokarsinom, CD44 boyanması 1+ (İHK, x20).



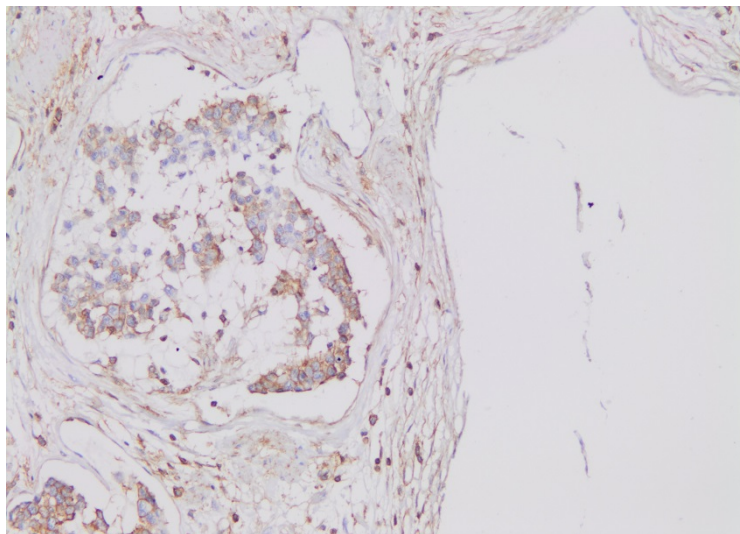
Şekil 14. İntestinal tip adenokarsinom, CD44 boyanması 2+ (İHK, x20).



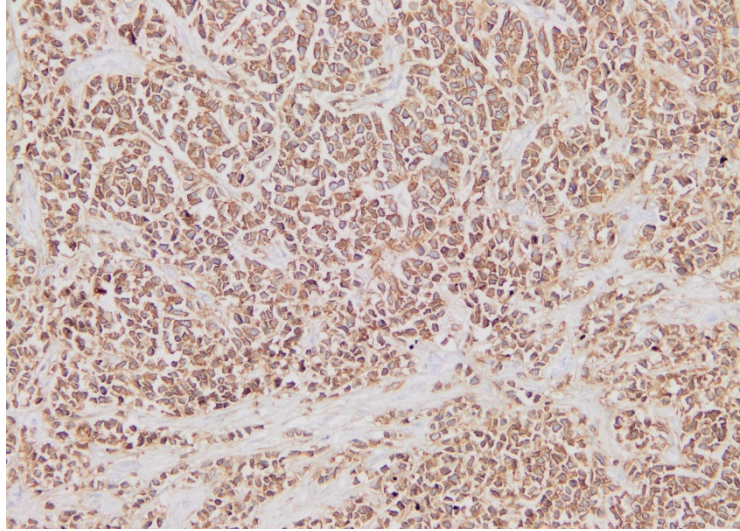
Şekil 15. İntestinal tip adenokarsinom, CD44 boyanması 3(+) (İHK, ×20).



Şekil 16. Diffüz tip adenokarsinom, CD44 boyanması 1(+) (İHK, ×20).



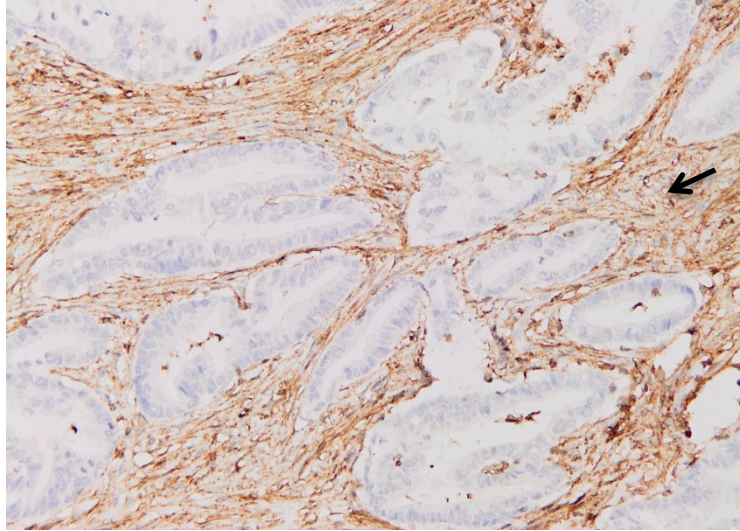
Şekil 17. Diffüz tip adenokarsinom, CD44 boyanması 2(+) (İHK, ×20).



Şekil 18. Diffüz tip adenokarsinom, CD44 boyanması 3(+) (İHK, ×20).

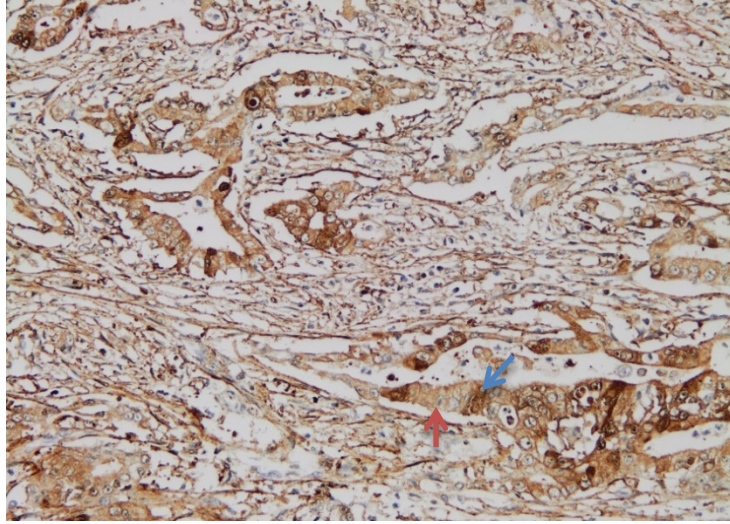
ALDH-1

ALDH-1 sitoplazmada yer alan bir proteindir, bu nedenle neoplastik hücrelerdeki tüm sitoplazmik boyanmalar pozitif olarak kabul edilmiştir. Stromadaki fibroblastlar internal kontrol olarak kullanılmıştır. Boyanma şiddeti fibroblastlara benzeyen ALDH-1 immünekspresyonu 2+ olarak değerlendirilmiştir. ALDH-1'in boyanma şiddetinin değerlendirilmesine ait örnekler, Şekil 19–25'te verilmiştir.

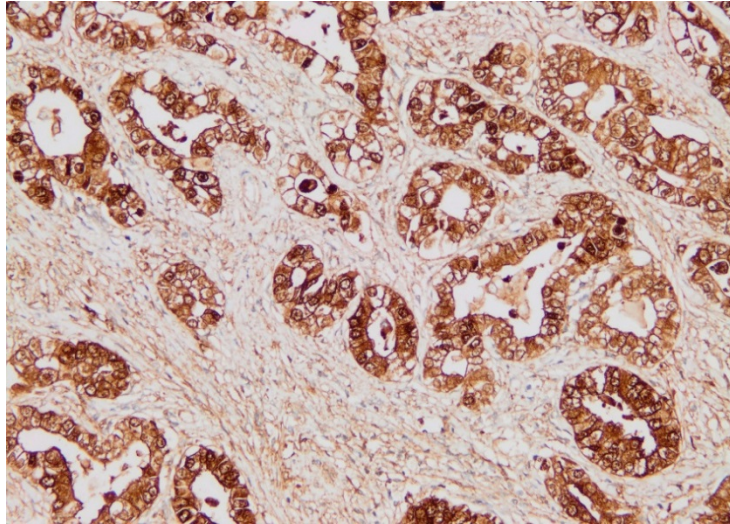


Şekil 19. İntestinal tip adenokarsinom, negatif ALDH-1 boyanması (İHK, ×20).

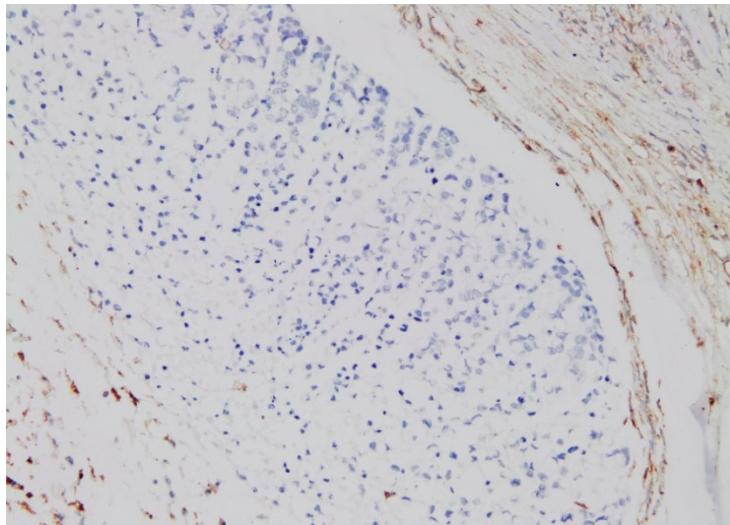
Ok: İnternal kontrol, stroma



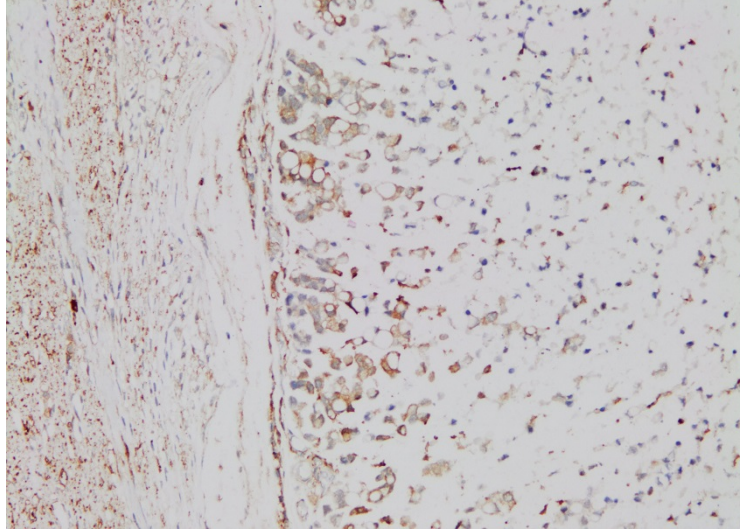
Şekil 20. İntestinal tip adenokarsinom, ALDH-1 pozitifliği (İHK, $\times 20$).
Kırmızı ok: 1(+) boyanma. Mavi ok: 2(+) boyanma.



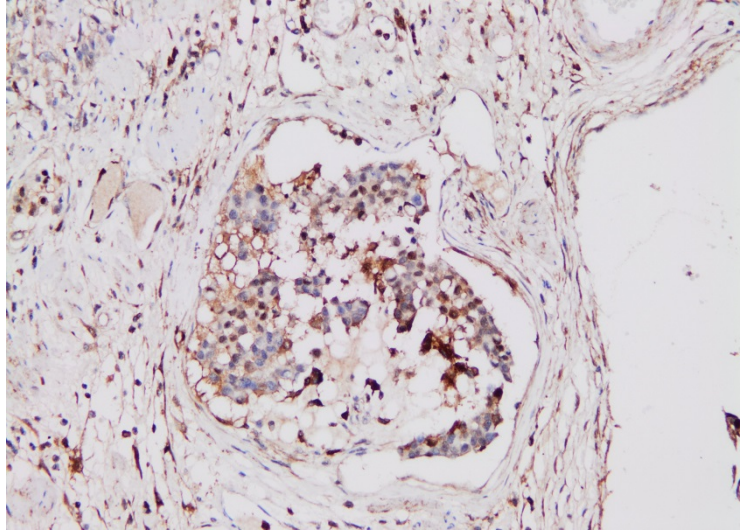
Şekil 21. İntestinal tip adenokarsinom, ALDH-1 boyanması 3(+) (İHK, $\times 20$).



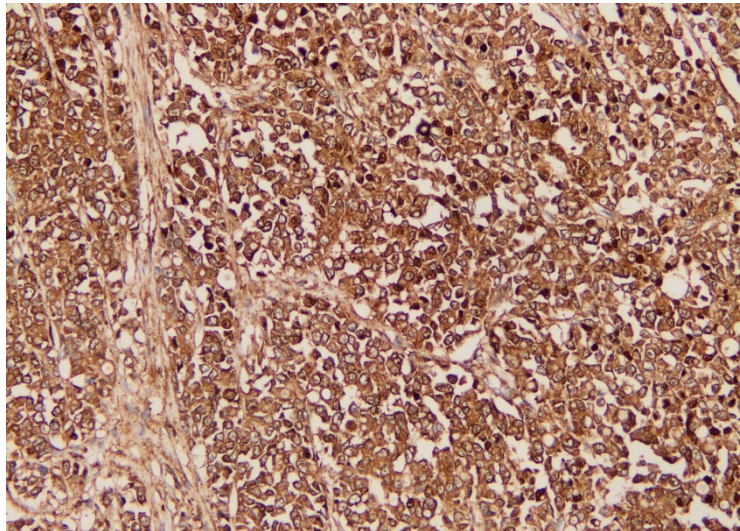
Şekil 22. Diffüz tip adenokarsinom, negatif ALDH-1 boyanması (İHK, $\times 20$).



Şekil 23. Diffüz tip adenokarsinom, ALDH-1 boyanması 1(+) (İHK, x20).



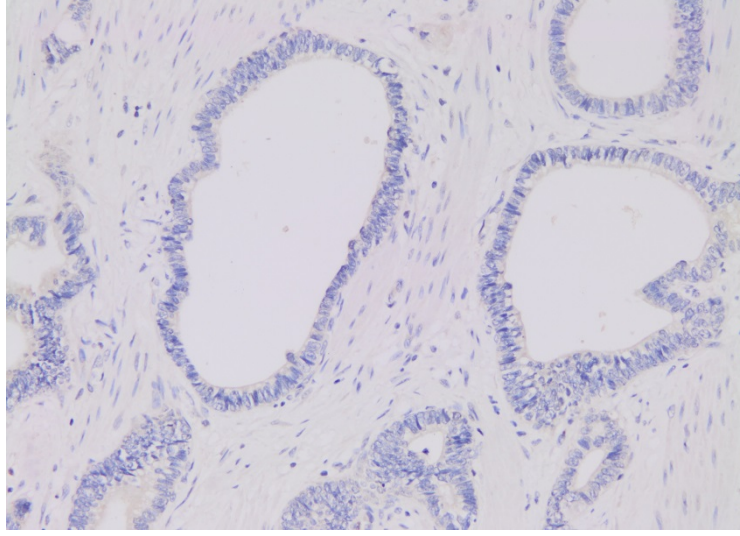
Şekil 24. Diffüz tip adenokarsinom, ALDH-1 boyanması 2(+) (İHK, x20).



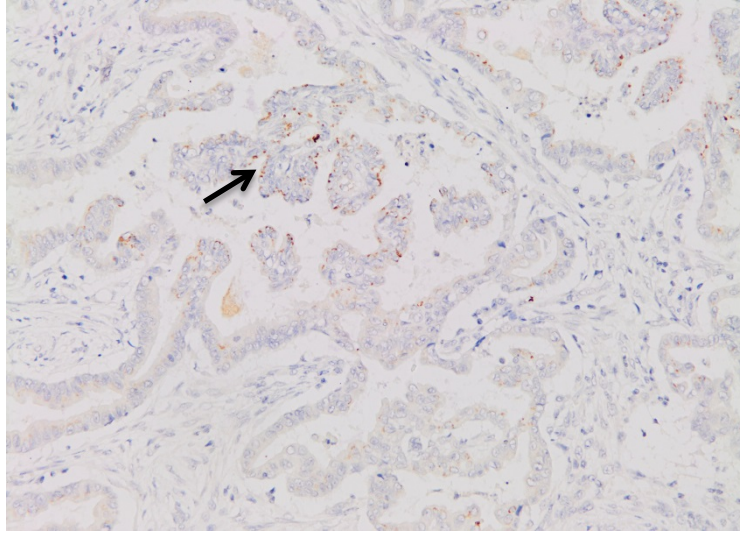
Şekil 25. Diffüz tip adenokarsinom, ALDH-1 boyanması 3(+) (İHK, x20).

Lgr5

Foveolar epitelde müsinin içindeki sıvama şeklinde görülen boyanmalar değerlendirmeye alınmamıştır (Şekil 91). Bunun dışında kalan, tüm sitoplazmik ve/veya membranöz boyanmalar pozitif olarak kabul edilmiştir. Lgr5'in boyanma şiddetinin değerlendirilmesine ait örnekler, Şekil 26–33'te verilmiştir.

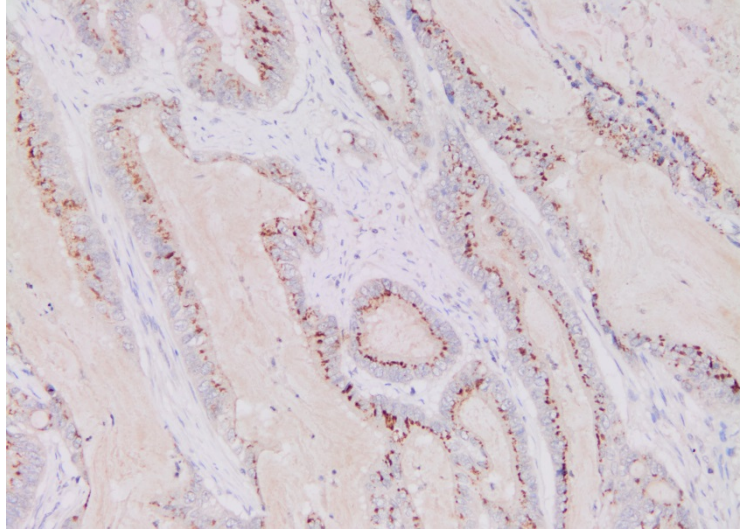


Şekil 26. İntestinal tip adenokarsinom, negatif Lgr5 boyanması (İHK, ×20).

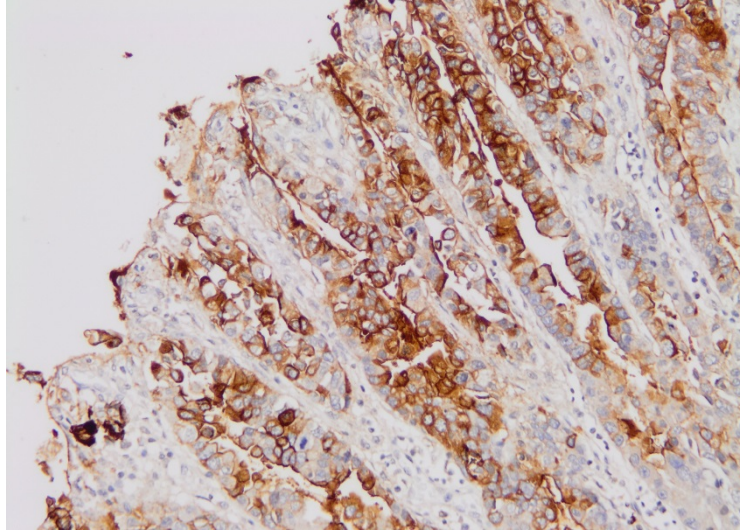


Şekil 27. İntestinal tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 1(+) (İHK, ×20).

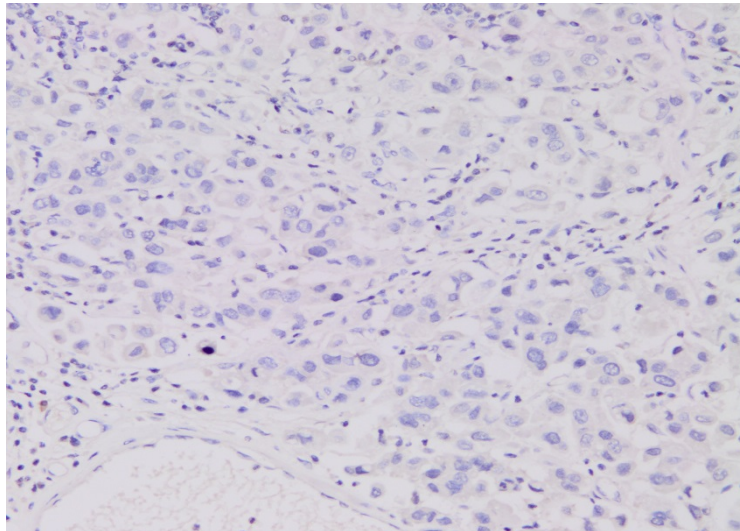
Ok: Lgr5 pozitif hücreler.



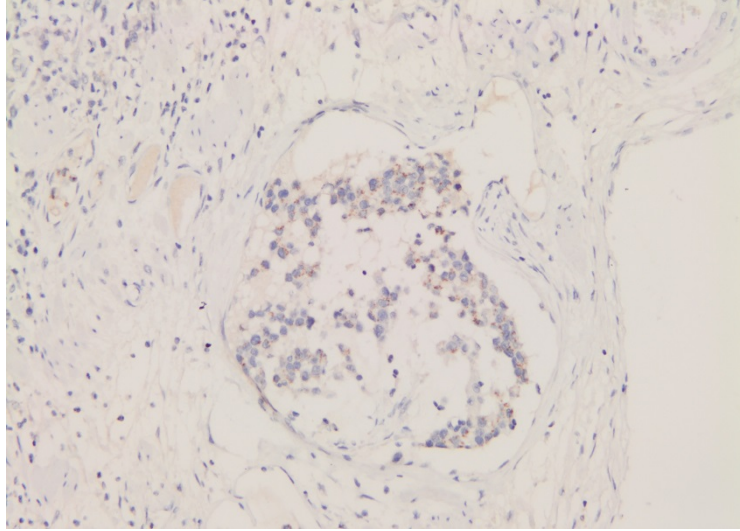
Şekil 28. İntestinal tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 2(+) (İHK, ×20).



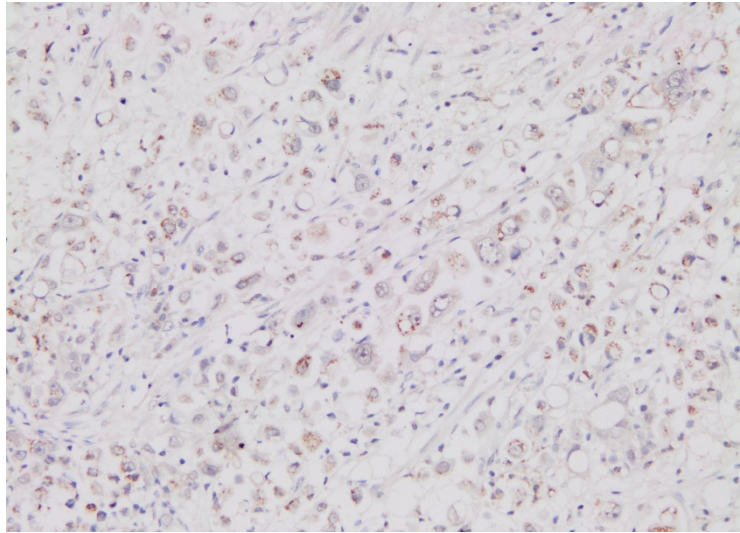
Şekil 29. İntestinal tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 3(+) (İHK, ×20).



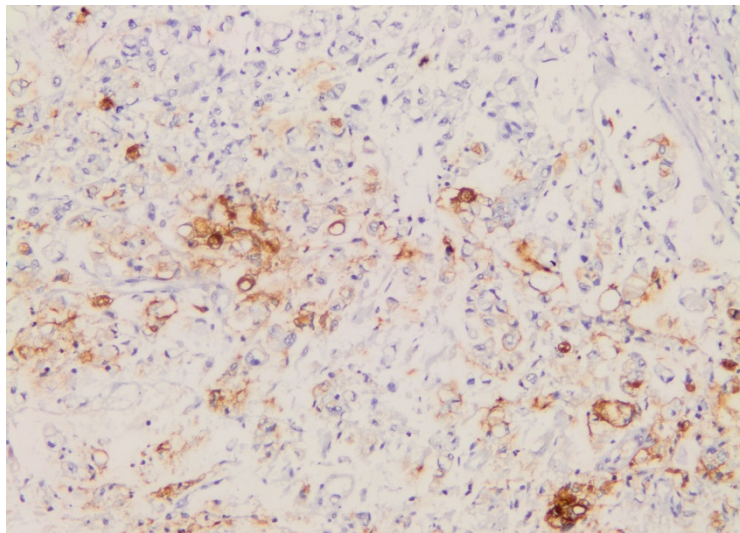
Şekil 30. Diffüz tip adenokarsinom, negatif Lgr5 boyanması (İHK, ×20).



Şekil 31. Diffüz tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 1(+) (İHK, ×20).



Şekil 32. Diffüz tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 2(+) (İHK, ×20).

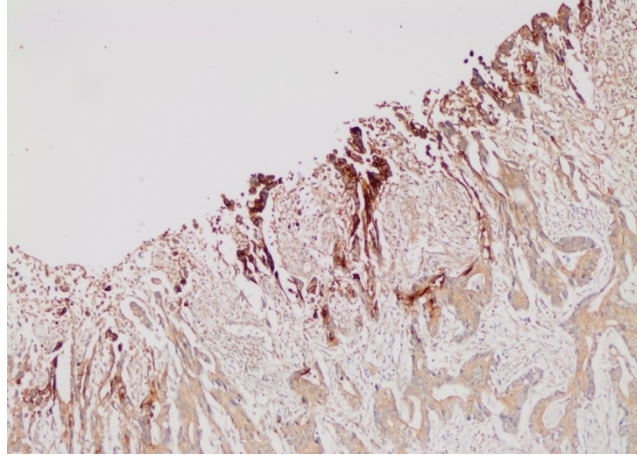


Şekil 33. Diffüz tip adenokarsinom, Lgr5 boyanması 3(+) (İHK, ×20).

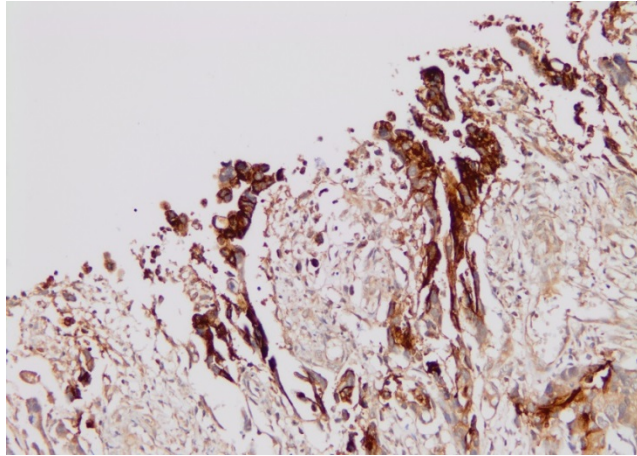
Tümörde Lgr5 boyanma özellikleri

Karsinom olgularında Lgr5 İHK ekspresyonunun değerlendirilmesinde, boyanan hücrelerin tümör içinde dağılımları ve neoplastik hücrelerin boyanma paternleri dikkati çekmiştir.

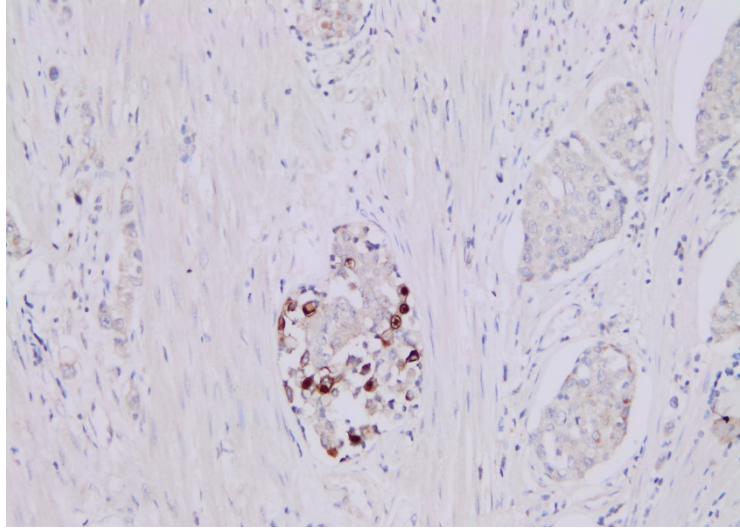
Lgr5 ile boyanan tümör hücrelerinin mide lümenine bakan yüzde (lüminal), lenfatikler içinde veya serozal yüzeyde (invazyon alanı) veya diffüz (lümen ve invazyon alanı arasında) olarak tümör içinde dağılım gösterdiği saptanmıştır¹². Boyanma özellikleri; luminal boyanan olgularda sitoplazmik/apikal membranöz, diğer dağılımlarda ise sitoplazmik ve/veya granüler şekilde izlenmiştir. Lüminal boyanan olgulardaki karakteristik sitoplazmik/apikal membranöz boyanma saptanmıştır. Tüm Lgr5 pozitif olgular **1.Lüminal 2. Lüminal dışı** olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Tümörde Lgr5 boyanma özellikleri Şekil 34–37’de gösterilmiştir.



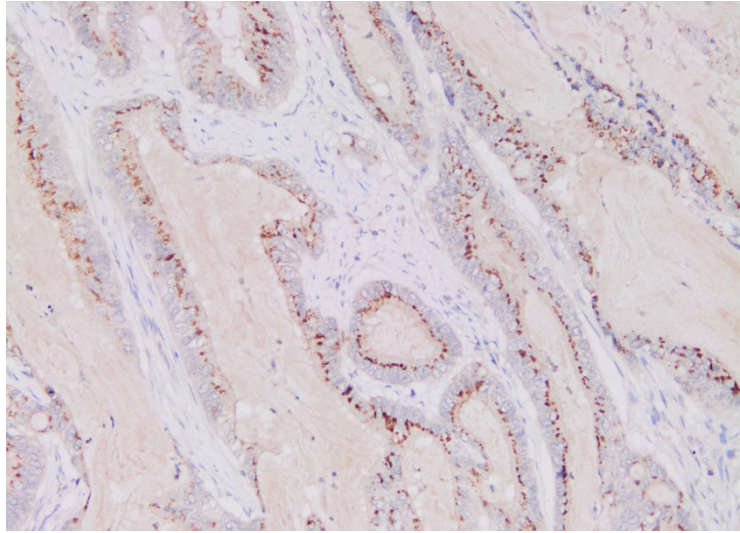
Şekil 34. Lüminal Lgr5 boyanması (İHK, ×10).



Şekil 35. Lüminal Lgr5 boyanması (İHK, ×20).



Şekil 36. Lüminal dışı Lgr5 boyanması (lenfatik invazyon alanında boyanma) (İHK, ×10).



Şekil 37. Lüminal dışı Lgr5 boyanması (diffüz boyanma) (İHK, ×10).

11.4.2.2. Tümör çevresi

Tümör çevresi mide mukozasında 134 olguda CD44, ALDH-1 ve Lgr5 immünohistokimya boyaları uygulanmasına karşın, yalnız Lgr5 immünoekspresyon sonuçları tez kapsamında yorumlanmıştır. Tümör çevresindeki mide mukozasında CD44 immünoekspresyonunun değerlendirilmesinde çalışmacılar arasındaki uyumun düşük olması, değerlendirme sonuçlarının tez kapsamına alınmamasıyla sonuçlanmıştır. ALDH-1 ile ise gastrik mukozada foveola ve bezler arasında yer alan lamina proprianın kuvvetli immünoekspresyon göstermesi, yorumu ileri derecede sınırlamış ve değerlendirme yapılamamıştır.

Lgr5

Tümör çevresi mide mukozası 134 olguda mevcuttur. Normal mukoza (n=68), intestinal metaplazi (n=94), displazi (n=25) alanlarında Lgr5 immünoekspresyonu değerlendirilmiştir.

Mide karsinogenez basamaklarında Lgr5 pozitifliğini daha detaylı inceleyebilmek için boyanma şiddeti ve boyanma yüzdesinin yanısıra, immünoekspresyonun dağılımı ve lokalizasyonu da göz önüne alınmıştır. Tümör çevresi gastrik mukoza lezyonlarında boyanma oranı, tümöre göre daha düşük olması nedeniyle, boyanma yüzdesi belirlenirken tümörde uygulandan farklı eşik değerler kullanılmıştır. Karşılaştırma yapabilmek amacıyla intestinal tip adenokarsinom alanlarında da benzer şekilde Lgr5 total skoru belirlenmiştir. Her bir parametre 0-3 arasında skorlanmıştır. Lgr5 ekspresyon verilerinin toplanması ile “Lgr5 total skoru” (0-12) belirlenmiştir (Tablo 12).

Lokalizasyon (0-3) + dağılım (0-3) + boyanma şiddeti (0-3) + boyanma yüzdesi (0-3) toplanarak “**Lgr5 Total Skoru**” (0-12) belirlenmiştir.

Tablo 12. Lgr5 total skoru (tümör ve tümör çevresi)

Lgr5 Total Skoru (Tümör ve tümör çevresi)				
Lokalizasyon	Boyanmadı	Bazal	Yüzey	Bazal + Yüzey
	0	1	2	3
Dağılım	Boyanmadı	Fokal	Dağınık	Diffüz
	0	1	2	3
Şiddet	Boyanmadı	Hafif	Orta	Şiddetli
	0	1	2	3
Boyanma yüzdesi	Boyanmadı	<%5	%6-10	>%10
	0	1	2	3

$$\text{Lgr5 total skor (Tümör ve tümör çevresi için)} = \text{Lokalizasyon} + \text{dağılım} + \text{boyanma şiddeti} + \text{boyanma yüzdesi}$$

11.5. İstatistiksel Analizler

Çalışmamızın istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 16 (Statistical Package for Social Sciences) programında yapılmıştır.

Nitel değişkenler için ki-kare testi, sayısal değişkenler için Student T test ve ANOVA testleri kullanılmıştır.

Sağkalım analizlerinde Kaplan Meier Eğrileri ve Log Rank testi, sağkalıma bağımsız etkilerin değerlendirilmesinde ise Cox Regresyon Analizi uygulanmıştır.

Tüm istatistiksel testlerde p değeri <0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

12. BULGULAR

Toplam 153 gastrektomi olgusu çalışma kapsamına alınmıştır. Klinik ve patolojik verilerin dağılımı aşağıda belirtilmiştir.

12.1. Klinik Bulgular

- **Yaş:** 29-84 (ortalama yaş 61)
- **Cinsiyet:**
 - Erkek % 69 (n=105)
 - Kadın % 31 (n=48)
- **Klinik İzlem Verileri:**
 - **Cerrahi öncesi tedavi:** 153 olgunun hiçbirinde neo-adjuvan tedavi uygulanmamıştır.
 - **Cerrahi sonrası tedavi:** Gastrektomi sonrası 144 olgunun takibi mevcuttur. Takipli olgulardan 43'ü kemoterapi+radyoterapi, 36'sı sadece kemoterapi ve 2'si sadece radyoterapi almıştır.
 - **İzlem Süresi:** 0,5-29 ay (ortalama 11,5 ay)
 - **Exitus:** İzlem süresi içinde 49 olgu ex olmuştur.
İzlem Süresi : 0,5-29 ay (ortalama .7,47ay)
 - **Exitus (-):** İzlem süresi içinde 95 kişi hayattadır.
 - **İzlem Süresi :** 1-29 ay (ortalama 14,15ay)

12.2. Histopatolojik Bulgular

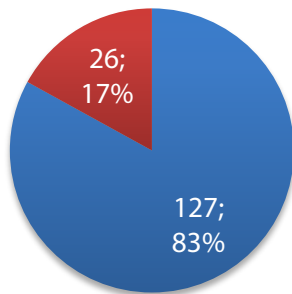
Histopatolojik bulgular Şekil 38 A-L'de gösterilmiştir.

- **Tümör çapı:** 0,6–25 cm (ortalama 6,6±3,6 cm)
- **Tümör yerleşimi**
 - *Proksimal:* % 17 (n=26)
 - *Distal:* % 83 (n=127)

- **Histolojik tip (Lauren)**
 - *İntestinal tip*: % 66 (n=100)
 - *Diffüz tip*: % 24 (n=38)
 - *Mikst tip*: %10 (n=15)
- **Derece**
 - *Düşük derece*: % 59,5 (n=91)
 - *Yüksek derece*: % 40,5 (n=62)
- **Duvar yayılımı (T)**
 - *Erken duvar yayılımı (Erken T)*: % 24,2 (n=37)
 - *İleri duvar yayılımı (İleri T)*: % 75,8 (n=116)
- **Lenf nodu tutulumu (N)**
 - *N0*: % 24,2 (n=37)
 - *N1*: % 17 (n=26)
 - *N2*: % 19 (n=29)
 - *N3a*: % 26,8 (n=41)
 - *N3b*: % 12,4 (n=19)
- **Pozitif lenf nodu sayısı**: 0-37 adet (ortalama 6,6±7)
- **Perinodal yayılım**
 - *Yok*: %27 (n=30)
 - *Var*: %73 (n=123)
- **Evre**
 - *Erken evre*: %37,9 (n=58)
 - *İleri evre*: %62,1 (n=95)
- **Lenfatik invazyon**
 - *Yok* : % 22 (n=34)
 - *Var* : % 78 (n=119)

- **Vasküler invazyon**
 - Yok : % 50,3 (n=77)
 - Var : % 49,7 (n=76)
- **Perinöral invazyon**
 - Yok : % 46 (n=70)
 - Var : % 54 (n=80)
- **Desmoplastik yanıt**
 - Yok: % 22 (n=33)
 - Hafif şiddette: % 30 (n=45)
 - Orta şiddette: % 32 (n=48)
 - Şiddetli: % 17 (n=22)
- **Lenfositik yanıt**
 - Yok: % 34 (n=52)
 - Hafif şiddette: % 46 (n=71)
 - Orta şiddette: % 16 (n=25)
 - Şiddetli: % 3 (n=5)
- ***Helicobacter pylori***: Olguların %72'sinde (n=102) saptanmamış, % 30'unda (n=44) saptanmıştır.

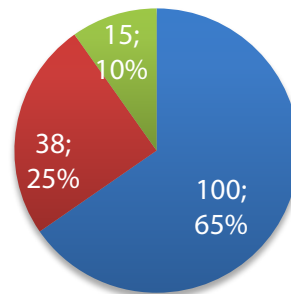
Tümör yerleşimi



■ Distal ■ Proksimal

A

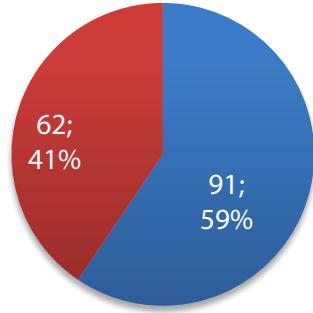
Histolojik tip



■ İntestinal ■ Diffüz ■ Mikst

B

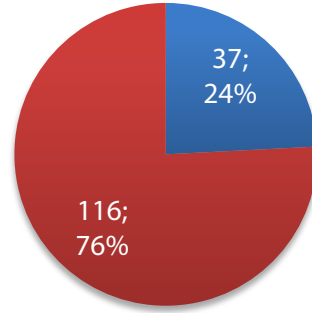
Derece



■ Düşük ■ Yüksek

C

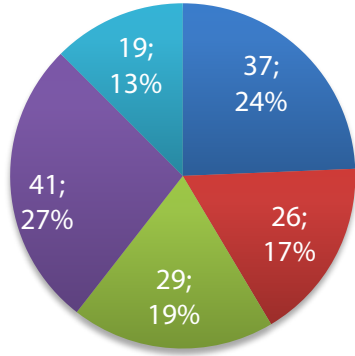
Duvar Yayılımı (T)



■ Erken T ■ İleri T

D

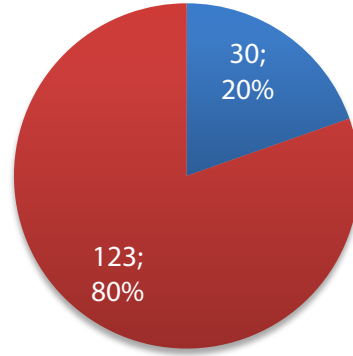
Lenf Nodu Tutulumu (N)



■ N0 ■ N1 ■ N2 ■ N3a ■ N3b

E

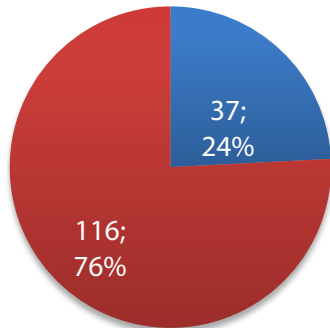
Perinodal Yayılım



■ Yok ■ Var

F

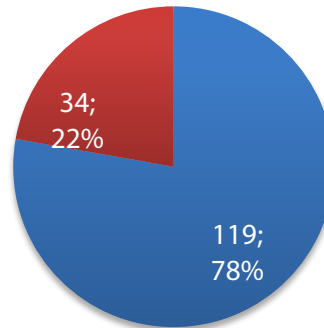
Evre



■ Erken (T1-2) ■ İleri (T3-4)

G

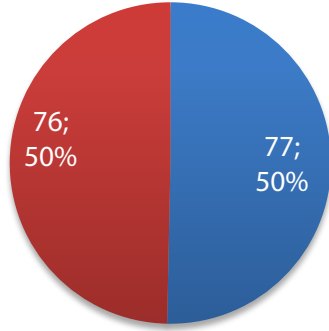
Lenfatik İnvazyon



■ Var ■ Yok

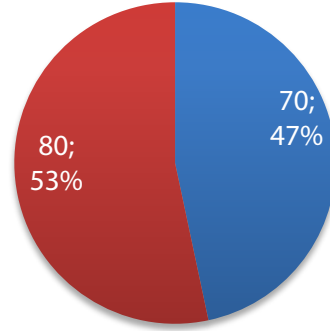
H

Venöz İnvazyon



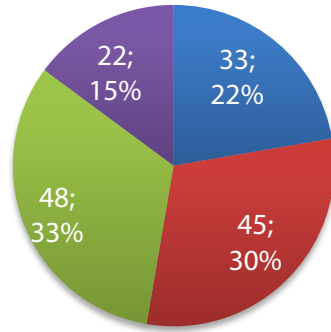
■ Yok ■ Var

Perinöral İnvazyon



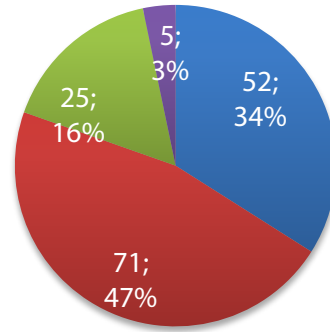
■ Yok ■ Var

Desmoplastik Yanıt



■ Yok ■ Hafif ■ Orta ■ Şiddetli

Lenfositik Yanıt



■ Yok ■ Hafif ■ Orta ■ Şiddetli

Şekil 38. Histopatolojik bulgular

- A. Tümör yerleşimi B. Histolojik tip C. Derece D. Duvar yayılımı (T)
E. Lenf nodu tutulumu (N) F. Perinodal yayılım G. Evre H. Lenfatik invazyon
I. Venöz invazyon J. Perinöral invazyon K. Desmoplastik yanıt L. Lenfositik yanıt

12.3. Klinikopatolojik Bulgular Arası İlişkiler

12.3.1. Histolojik tip – Diğer klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi

Histolojik tip ile klinikopatolojik değişkenlerin ilişkisi Tablo 13'te gösterilmiştir. Mide duvar yayılımı (T), perinöral invazyon, lenfositik yanıt ile histolojik tip ilişkisi değerlendirildiği zaman intestinal, diffüz ve mikst grupları arasında anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

Diffüz tipteki tümörlerin %86,8 i ileri duvar yayılımı, %52,6'sı perinöral invazyon göstermektedir. İntestinal tipteki tümörlerin %69'unda hafif-orta şiddette lenfositik yanıt izlenmiştir.

Yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör lokalizasyonu, evre, lenfatik invazyon, vasküler invazyon, lenf nodu tutulumu (N), perinodal yayılım, desmoplastik yanıt ve HP varlığı ile histolojik tip ilişkisi değerlendirildiği zaman üç grup arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 13 Histolojik tip-klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi

	İntestinal		Diffüz		Mikst		P
	n	%	n	%	n	%	
T							
Erken	25	%25	5	%13,2	7	%46,7	0,04
İleri	75	%75	33	%86,8	8	%53,3	
Perinöral invazyon							
Yok	49	%49	15	%39,5	6	%40	0,04
Var	51	%51	20	%52,6	9	%60	
Lenfositik yanıt							
Yok	30	%30	17	%44,7	5	%33,3	0,002
Hafif	48	%48	17	%44,7	6	%40,0	
Orta	21	%21	3	%7,9	1	%6,7	
Şiddetli	1	%1	1	%2,6	3	%20,0	

12.3.2. Derece – Diğer klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi

Mide duvar yayılımı (T), lenf nodu tutulumu (N), evre, perinöral invazyon ve desmoplastik yanıt açısından, düşük derece ve yüksek derece grupları arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 14). Yüksek dereceli olguların %88,7 si ileri duvar yayılımı (T3-4), %58,1'i ileri lenf nodu tutulumu (N3) ve %77,4'ü ileri evreye sahiptir. Yüksek dereceli olguların %61,3'ünde perinöral invazyon, %59,6'sında orta-şiddetli desmoplastik yanıt görülmektedir.

Yaş, cinsiyet, tümör çapı ve lokalizasyonu, lenfovasküler invazyon, perinöral yayılım, lenfositik yanıt ve HP varlığı ile derece ilişkisi değerlendirildiği zaman, her iki grup arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 14 Derece-klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi

	Düşük Derece		Yüksek Derece		P
	N	%	N	%	
T					
Erken (T1-2)	30	%33,0	7	%11,3	0,002
İleri (T3-4)	61	%67,0	55	%88,7	
N					
N0	31	%34,1	6	%9,7	0,001
N1	17	%18,7	9	%14,5	
N2	18	%19,8	11	%17,7	
N3a	19	%20,9	22	%35,5	
N3b	5	%5,5	14	%22,6	
Evre					
Erken	44	%48,4	14	%22,6	0,001
İleri	47	%51,6	48	%77,4	
Perinöral invazyon					
Yok	49	%53,8	21	%38,7	0,01
Var	42	%46,2	38	%61,3	
Desmoplastik yanıt					
Yok	22	%24,2	11	%17,7	0,018
Hafif	31	%34,1	14	%22,6	
Orta	29	%31,9	19	%30,6	
Şiddetli	9	%9,9	18	%29,0	

12.3.3. Evre – Diğer klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi

Evre ile klinikopatolojik değişkenlerin ilişkisi Tablo 15’te gösterilmiştir. Lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, perinodal yayılım ve desmoplastik yanıt ile evre ilişkisi değerlendirildiği zaman erken evre ve geç evre grupları arasında anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

İleri evre olguların %90,5’i lenfatik invazyon,%58’9’u vasküler invazyon, %69,5’i perinöral invazyon, %80,2’si perinodal yayılım göstermektedir. Şiddetli desmoplastik yanıt görülen olguların %70,4’ü ileri evreye sahiptir.

Yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör lokalizasyonu lenfositik yanıt ve HP varlığı ile evre ilişkisi değerlendirildiği zaman iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 15 Evre-klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi

	Erken evre		İleri evre		P
	n	%	n	%	
Lenfatik invazyon					
Yok	25	%43,1	9	%9,5	<0,0001
Var	33	%56,9	86	%90,5	
Vasküler invazyon					
Yok	37	%63,8	39	%41,1	0,008
Var	21	%36,2	56	%58,9	
Perinöral invazyon					
Yok	42	%75,8	28	%30,5	<0,0001
Var	14	%24,2	66	%69,5	
Perinodal yayılım					
Yok	12	%57,1	18	%19,8,	0,002
Var	9	%42,9	73	%80,2	
Desmoplastik yanıt					
Yok	20	%34,5	13	%13,7	0,002
Hafif	12	%20,7	33	%34,7	
Orta	18	%31,0	30	%31,6	
Şiddetli	8	%13,8	19	%20,0	

12.4. İHK Bulguları

12.4.1. CD44

12.4.1.1. CD44 immünekspresyonu

- **CD44 boyanma durumu:** Adenokarsinom alanlarında, immünekspresyon %37,3 (n=57) olguda izlenmemiş, %62,7 (n=96) izlenmiştir.
- **CD44 boyanma skoru:** Olguların dağılımı Tablo 16' da gösterilmiştir.

Tablo 16. Olguların CD44 skor dağılımları

CD44 boyanma skoru	n	%
0	57	%37,3
2	12	%7,8
3	40	%26,1
4	17	%11,1
5	11	%7,2
6	7	%4,6
7	9	%5,9

12.4.1.2. CD44 ekspresyonu – klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi

CD44 ekspresyonu ile klinikopatolojik değişkenler ilişkisi Tablo 17'de gösterilmiştir. CD44 pozitifliği; histolojik tip, mide duvar yayılımı (T), lenfatik invazyon, vasküler invazyon ve desmoplastik yanıt ile ilişkili bulunmuştur (Şekil 39-43).

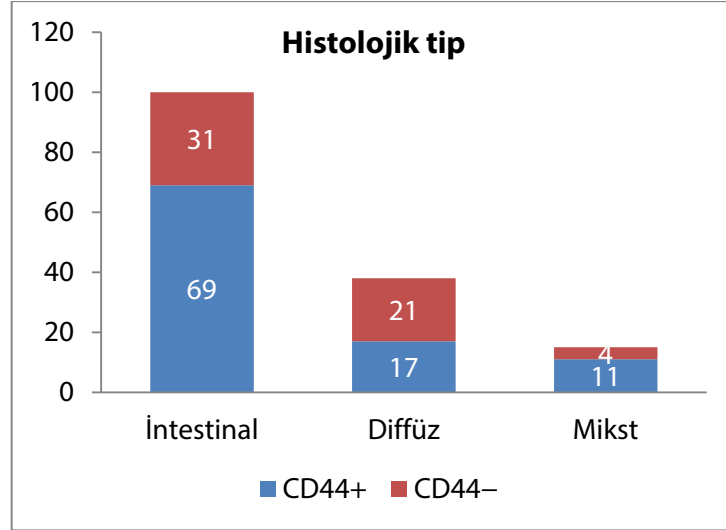
İntestinal morfolojiye sahip olgular arasında CD44 pozitifliğinin yaygın olduğu saptanmıştır (p=0,02) (Şekil 63-64). CD44 pozitifliği ile, ileri duvar yayılımı (ileri T) arasında ilişki saptanmasına karşın (p= 0,03), benzer ilişki ileri evre ile gösterilememiştir (p> 0,05). CD44 (+) olgularda lenfatik invazyon ve vasküler invazyon daha yüksek oranda saptanmış ve belirgin desmoplastik yanıt izlenmiştir (p< 0,05).

Yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, derece, lenf nodu tutulumu (N), evre, perinöral invazyon, perinodal yayılım, lenfositik yanıt, HP varlığı açısından CD44 (+) ve (-) gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

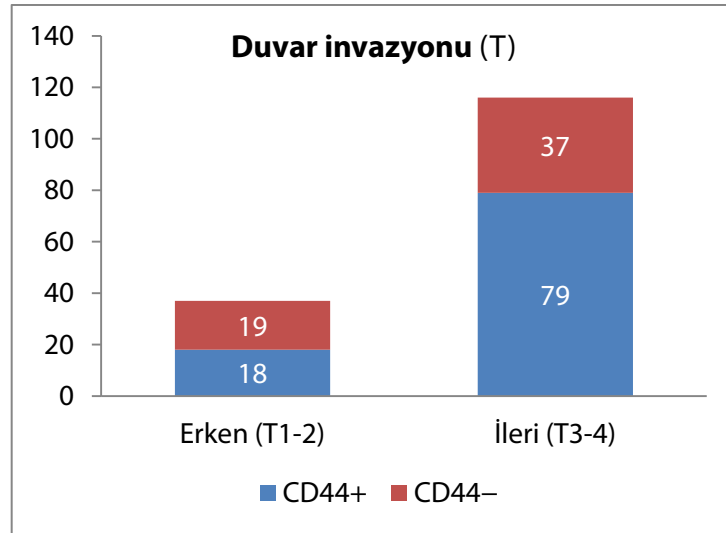
Tablo 17. CD44 ekspresyonunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi

	CD44+		CD44-		P
	N	%/ort.	N	%/ort.	
Yaş	97	61 ± 11	56	62 ± 13	>0,05
Tümör çapı	97	3,1 ± 0,3	56	4,3 ± 0,6	>0,05
Cinsiyet					
Erkek	65	%61,9	40	%38,1	>0,05
Kadın	32	%66,7	16	%33,3	
Lokalizasyon					
Proksimal	18	%69,2	8	%30,8	>0,05
Distal	79	%62,2	48	%37,8	
Histolojik Tip					
İntestinal	69	%69	31	%31	0,02
Diffüz	17	%44,7	21	%55,3	
Mikst	11	%73,3	4	%26,7	
Derece					
Düşük	62	%68,1	29	%31,9	>0,05
Yüksek	35	%56,5	27	%43,5	
T					
Erken - T	18	%48,6	19	%51,4	0,03
İleri - T	79	%68,1	37	%31,9	
N					
N0	21	%56,8	16	%43,2	>0,05
N1	15	%57,7	11	%42,3	
N2	20	%69	9	%31	
N3a	28	%68,3	13	%31,7	
N3b	13	%68,4	6	%31,6	

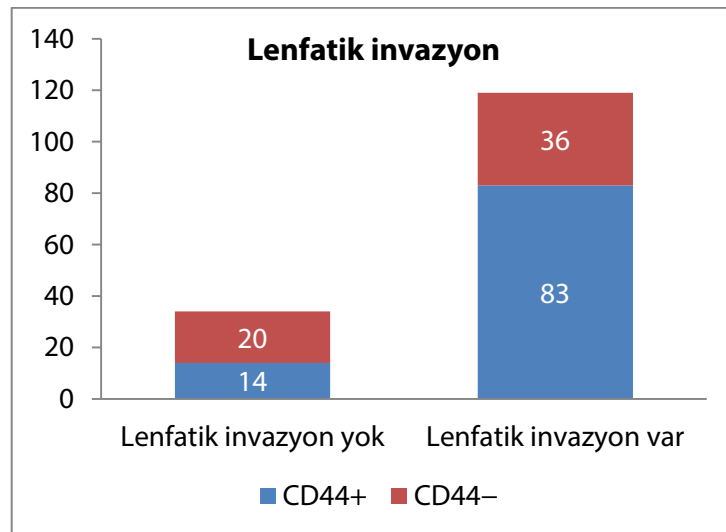
Evre					
Erken	34	%58,6	24	%41,4	>0,05
İleri	63	%66,3	32	%33,7	
Perinodal invazyon					
Yok	18	%60	12	%40	>0,05
Var	57	%69,5	25	%30,5	
Lenfatik invazyon					
Yok	14	%41,2	20	%58,8	0,004
Var	83	%69,7	36	%30,3	
Vasküler invazyon					
Yok	41	%53,9	35	%46,1	0,02
Var	56	%72,7	21	%27,3	
Perinöral invazyon					
Yok	40	%57,1	30	%42,9	>0,05
Var	56	%70	24	%30	
Desmoplastik yanıt					
Yok	12	%36,4	21	%63,6	0,003
Hafif	33	%73,3	12	%26,7	
Orta	35	%72,9	13	%27,1	
Şiddetli	17	%63	10	%37	
Lenfositik yanıt					
Yok	29	%55,8	23	%44,2	>0,05
Hafif	45	%63,4	26	%36,6	
Orta	19	%76	6	%24	
Şiddetli	4	%80	1	%20	
H. pylori					
Negatif	68	%66,7	34	%33,3	>0,05
Pozitif	24	%54,5	20	%45,5	



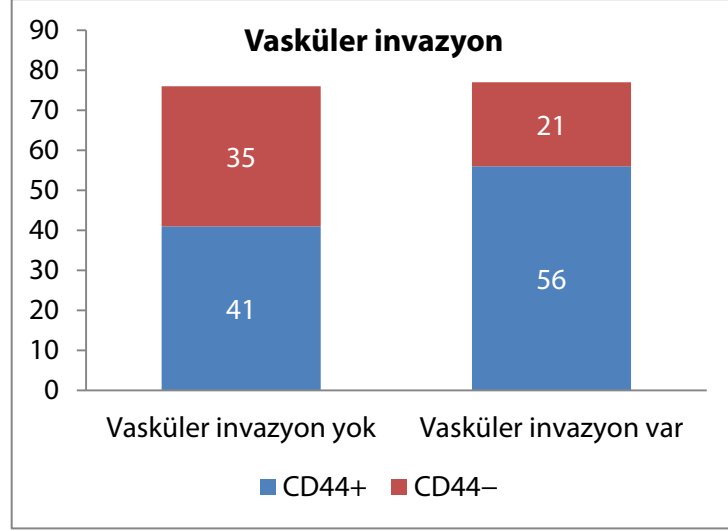
Şekil 39. CD44 ekspresyonu histolojik tip ilişkisi



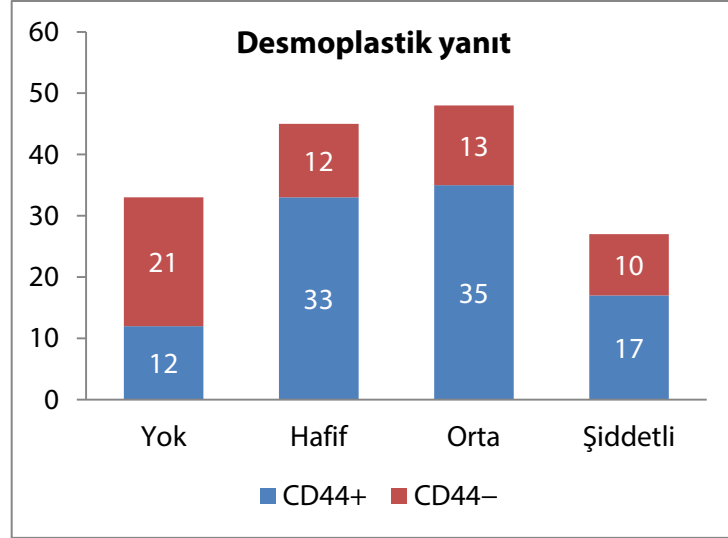
Şekil 40. CD44 ekspresyonu duvar yayılımı ilişkisi



Şekil 41. CD44 ekspresyonu lenfatik invazyon ilişkisi



Şekil 42. CD44 ekspresyonu vasküler invazyon ilişkisi



Şekil 43. CD44 ekspresyonu desmoplastik yanıt ilişkisi

12.4.1.3. [CD44 boyanma skoru – klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi](#)

CD44 boyanma skoru ile klinikopatolojik değişkenler ilişkisi Tablo 18'de gösterilmiştir. CD44 boyanma skoruyla, mide duvar yayılımı (T), lenfatik invazyon, vasküler invazyon ve desmoplastik yanıt arasında anlamlı ilişki vardır ($p < 0,05$). Histolojik tip ile CD44 pozitifliği arasında anlamlı ilişki olmasına rağmen, CD44 boyanma skoru ile benzer ilişki saptanamamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 18. CD44 boyanma skorunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi

	Olgu Sayısı	CD44 Boyanma Skoru Ortalama \pm SD	P
T			
Erken - T	37	1,78 \pm 2,11	0,038
İleri - T	116	2,64 \pm 2,12	
Lauren			
Diffüz	38	1,84 \pm 2,30	0,130
İntestinal	100	2,57 \pm 2,14	
Mikst	15	3,00 \pm 2,27	
Lenfatik invazyon			
Var	119	2,75 \pm 2,25	0,001
Yok	34	1,32 \pm 1,68	
Vasküler invazyon			
Var	77	2,90 \pm 2,26	0,008
Yok	76	1,96 \pm 2,07	

SD: Standart sapma

12.4.2. ALDH-1

12.4.2.1. ALDH-1 immünekspresyonu

- **ALDH-1 boyanma durumu:** Adenokarsinom alanlarında, immünekspresyon %18,3 (n=28) olguda izlenmemiş, %81,7 (n=125) izlenmiştir.
- **ALDH-1 boyanma skoru:** Olguların dağılımı Tablo 19'da gösterilmiştir.

Tablo 19. Olguların ALDH-1 skor dağılımları

ALDH-1 boyanma skoru	n	%
0	28	%18,4
2	11	%7,2
3	13	%8,6
4	20	%13,2
5	25	%16,4
6	29	%19,1
7	26	%17,1

12.4.2.2. ALDH-1 ekspresyonu – klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi

ALDH-1 ekspresyonu ile klinikopatolojik değişkenler ilişkisi Tablo 20’ de gösterilmiştir. ALDH-1 ekspresyonu, tümör lokalizasyonu, derece, perinöral invazyon ve perinodal yayılım ile ilişkili bulunmuştur (Şekil 44).

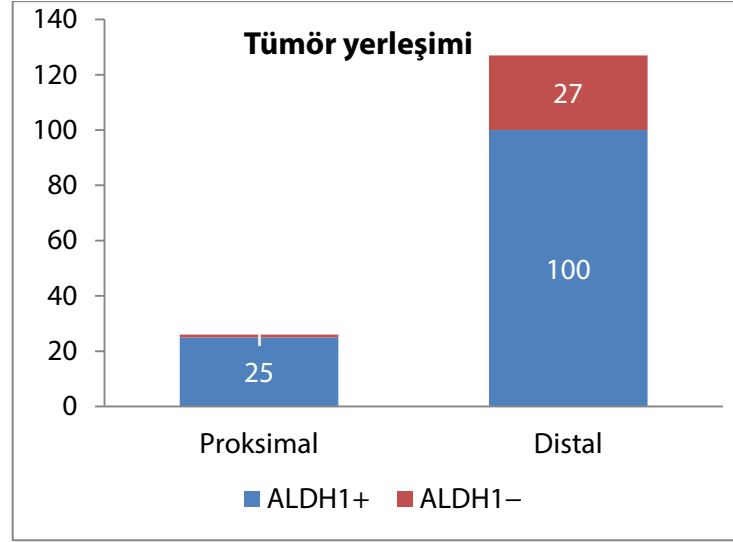
Proksimal yerleşimli 26 olgunun 25 tanesi ALDH-1 pozitifdir (Şekil 65-66). ALDH-1 (+) olgular düşük dereceli olma eğilimindedir ($p=0,02$). Perinodal yayılım ALDH-1 pozitifliği, perinöral invazyon ALDH-1 (-)liği ile ilişkili bulunmuştur ($p< 0,05$).

Yaş, cinsiyet, tümör çapı, histolojik tip, mide duvarı yayılımı, lenf nodu tutulumu, evre, lenfatik invazyon, vasküler invazyon, desmoplastik yanıt, lenfositik yanıt ve HP varlığı ile ALDH-1 boyanma ilişkisi değerlendirildiğinde ALDH-1 (+) ve (-) gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 20. ALDH-1 ekspresyonunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi

	ALDH1+		ALDH1-		P
	n	%/ort.	n	%/ort.	
Yaş	125	62 ± 12	28	61 ± 12	>0,05
Tümör çapı	125	6,3 ± 3,4	28	7,6 ± 4,2	>0,05
Cinsiyet					
Erkek	88	%83,8	17	%16,2	>0,05
Kadın	37	%77,1	11	%22,9	
Lokalizasyon					
Proksimal	25	%96,2	1	%3,8	0,04
Distal	100	%78,7	27	%21,3	
Lauren					
İntestinal	84	%84	16	%16	>0,05
Diffüz	27	%71,1	11	%28,9	
Mikst	14	%93,3	1	%6,7	
Derece					
Düşük	80	%87,9	11	%12,1	0,02
Yüksek	45	%72,6	17	%27,4	

T					
Erken (T1-2)	33	%89,2	4	%10,8	>0,05
İleri (T3-4)	92	%79,3	24	%20,7	
N					
N0	33	%89,2	4	%10,8	>0,05
N1	17	%65,4	9	%34,6	
N2	24	%82,8	5	%17,2	
N3a	33	%80,5	8	%19,5	
N3b	17	%89,5	2	%10,5	
Evre					
Erken	47	%81	11	%19	>0,05
İleri	78	%82,1	17	%17,9	
Perinodal invazyon					
Var	69	%84,1	13	%15,9	0,043
Yok	20	%66,7	10	%33,3	
Lenfatik invazyon					
Var	94	%79	25	%21	>0,05
Yok	31	%91,2	3	%8,8	
Vasküler invazyon					
Var	61	%79,2	16	%20,8	>0,05
Yok	64	%84,2	12	%15,8	
Perinöral invazyon					
Var	63	%78,8	17	%21,3	0,04
Yok	61	%87,1	9	%12,9	
Desmoplastik yanıt					
Yok	28	%84,8	5	%15,2	>0,05
Hafif	34	%75,6	11	%24,4	
Orta	40	%83,3	8	%16,7	
Şiddetli	23	%85,2	4	%14,8	
Lenfositik yanıt					
Yok	45	%86,5	7	%13,5	>0,05
Hafif	57	%80,3	14	%19,7	
Orta	20	%80	5	%20	
Şiddetli	3	%60	2	%40	
H. pylori					
Pozitif	36	%81,8	8	%18,2	>0,05
Negatif	83	%81,4	19	%18,6	



Şekil 44. ALDH-1 ekspresyonu histolojik tip ilişkisi

12.4.2.3. ALDH-1 boyanma skoru – klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi

ALDH-1 boyanma skoru ile klinikopatolojik değişkenler ilişkisi Tablo 21’de gösterilmiştir. ALDH-1 boyanma skoruyla; tümör yerleşimi, derece ve perinodal yayılım arasında anlamlı ilişki vardır ($p < 0,05$). Perinöral invazyon ile ALDH-1 pozitifliği arasında anlamlı ilişki olmasına rağmen, ALDH-1 skoruyla benzer bir ilişki saptanamamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 21. ALDH-1 boyanma skorunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi

	N	Ortalama \pm SD	P
Tümör yerleşimi			
Proksimal	26	4,96 \pm 1,93	0,021
Distal	126	3,91 \pm 2,47	
Derece			
Erken	90	4,56 \pm 2,24	0,004
İleri	62	2,42 \pm 2,51	
Perinodal yayılım			
Var	82	4,29 \pm 2,42	0,027
Yok	29	3,10 \pm 2,54	
Perinöral invazyon			
Var	69	4,45 \pm 2,25	0,599
Yok	80	3,85 \pm 2,47	

12.4.3. Lgr5

12.4.3.1. Lgr5 immünekspresyonu

- **Lgr5 boyanma durumu:** Adenokarsinom alanlarında, immünekspresyon %32,7 (n=50) olguda izlenmemiş, %67,3 (n=103) olguda izlenmiştir.
- **Lgr5 boyanma skoru:** Olguların dağılımı Tablo 22'de gösterilmiştir.

Tablo 22. Olguların Lgr5 skor dağılımları

Lgr5 boyanma skoru	n	%
0	50	%32,7
2	7	%4,6
3	34	%22,2
4	40	%26,1
5	17	%11,1
6	2	%1,3
7	3	%2,0

12.4.3.2. Lgr5 ekspresyonu - klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi

Lgr5 ekspresyonu ile klinikopatolojik değişkenler ilişkisi Tablo 23'te gösterilmiştir. Lgr5 pozitifliği derece, duvar yayılımı (T) ve evre ile ilişkili bulunmuştur (Şekil 45-47).

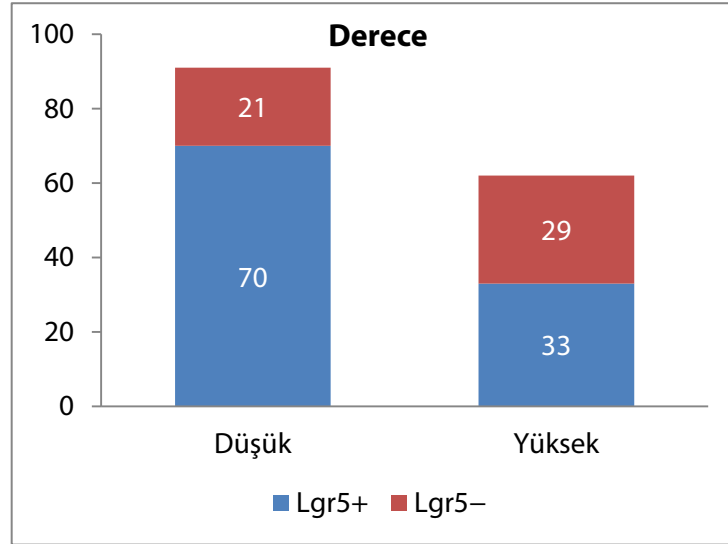
Lgr5 pozitifliği, düşük derece (Şekil 67-70), erken duvar yayılımı (erken T) ve erken evre ile anlamlı derecede ilişkilidir ($p<0,05$).

Yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör lokalizasyonu, histolojik tip, lenfatik invazyon, vasküler invazyon, perinöral invazyon, lenf nodu tutulumu, perinodal yayılım, desmoplastik yanıt, lenfositik yanıt ve HP varlığı ile Lgr5 boyanması arasında anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

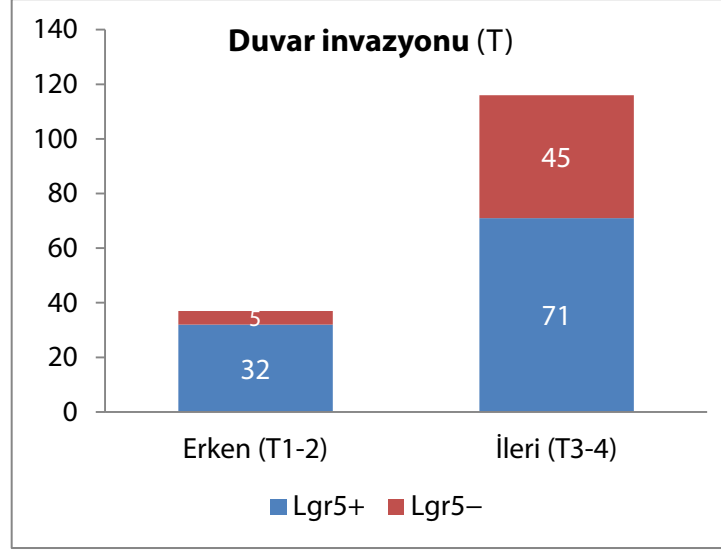
Tablo 23. Lgr5 ekspresyonunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi

	Lgr5+		Lgr5-		P
	n	%/ort.	n	%/ort.	
Yaş	103	61 ± 11	50	63 ± 13	>0,05
Tümör çapı	103	6,2 ± 3,7	50	7,3 ± 3,2	>0,05
Cinsiyet					
Erkek	69	%65,7	36	%34,3	>0,05
Kadın	34	%70,8	14	%28	
Lokalizasyon					
Proksimal	17	%65,4	9	%34,6	>0,05
Distal	86	%67,7	41	%32,3	
Lauren					
İntestinal	69	%69	31	%31	>0,05
Diffüz	21	%55,3	17	%44,7	
Mikst	13	%86,7	2	%13,3	
Derece					
Düşük	70	%76,9	21	%23,1	0,003
Yüksek	33	%53,2	29	%46,8	
T					
Erken (T1-2)	32	%86,5	5	%13,5	0,005
İleri (T3-4)	71	%61,2	45	%38,8	
N					
N0	29	%78,4	8	%21,6	>0,05
N1	18	%69,2	8	%30,8	
N2	19	%65,5	10	%34,5	
N3a	25	%61	16	%39	
N3b	11	%57,9	8	%42,1	
Evre					
Erken	46	%79,3	12	%20,7	0,02
İleri	57	%60	38	%40	
Perinodal invazyon					
Var	51	%62,2	31	%37,8	>0,05
Yok	20	%66,7	10	%33,3	
Lenfatik invazyon					
Var	80	%67,2	39	%32,8	>0,05
Yok	23	%67,6	11	%32,4	

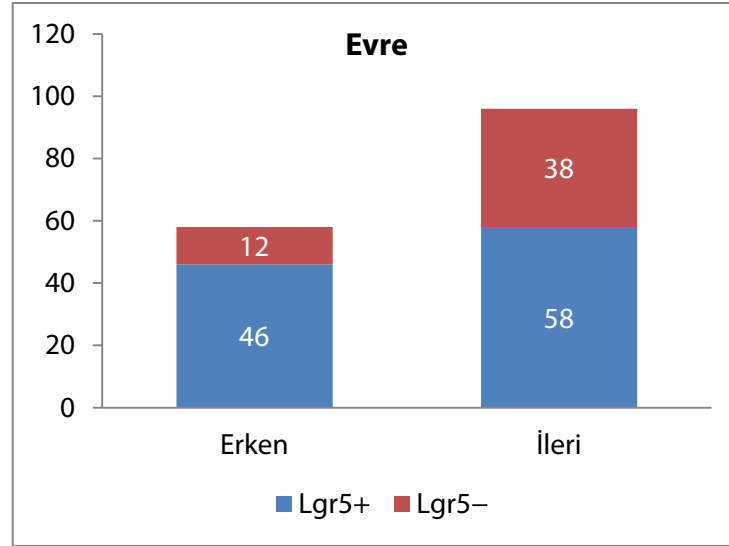
Vasküler invazyon					
Var	49	%63,6	28	%36,4	>0,05
Yok	54	%71,1	22	%28,9	
Perinöral invazyon					
Var	49	%61,3	31	%38,8	>0,05
Yok	53	%75,7	17	%24,3	
Desmoplastik yanıt					
Yok	21	%63,6	12	%36,4	>0,05
Hafif	29	%64,4	16	%35,6	
Orta	35	%72,9	13	%27,1	
Şiddetli	18	%66,7	9	%33,3	
Lenfositik yanıt					
Yok	32	%61,5	20	%38,5	>0,05
Hafif	51	%71,8	20	%28,2	
Orta	18	%72,0	7	%28,0	
Şiddetli	2	%40	3	%60	
H. pylori					
Pozitif	67	%65,7	35	%34,3	>0,05
Negatif	31	%70,5	13	%29,5	



Şekil 45. Lgr5 ekspresyonu derece ilişkisi



Şekil 46. Lgr5 ekspresyonu duvar yayılımı (T) ilişkisi



Şekil 47. Lgr5 ekspresyonu evre ilişkisi

12.4.3.3. [Lgr5 boyanma skoru - klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisi](#)

Lgr5 boyanma skoru ile klinikopatolojik değişkenler ilişkisi Tablo 24'te gösterilmiştir. Lgr5 boyanma skoruyla; derece, histolojik tip, mide duvar yayılımı (T) ve evre ile anlamlı ilişki vardır ($p < 0,05$). Lgr5 pozitifliğiyle histolojik tip arasında ilişki saptanmamasına rağmen; intestinal tip karsinomlar, diffüz tip karsinomlarla kıyaslandığında, Lgr5 skorunda anlamlı derecede artış tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Tablo 24. Lgr5 boyanma skorunun klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi

	N	Lgr5 skoru Ortalama ± SD	P
Derece			
Düşük	91	3,08 ± 1,93	<0,0001
Yüksek	62	1,84 ± 1,86	
Histolojik tip			
Diffüz	38	1,82 ± 1,80	0,012
İntestinal	100	2,74 ± 2,04	
Mikst	15	3,40 ± 1,60	
Duvar yayılımı (T)			
Erken (T1-2)	37	3,38 ± 1,74	0,003
İleri (T3-4)	116	2,32 ± 2,00	
Evre			
Erken	58	3,05 ± 1,80	0,017
İleri	95	2,28 ± 2,06	

12.4.3.4. Lgr5 boyanma paterni

Lgr5 boyanma patern örnekleri Şekil 34-37'de gösterilmiştir.

- **Negatif:** Adenokarsinom alanlarında, %32,7 (n=50) olguda Lgr5 ile immunekspresyon izlenmemiştir.
- **Luminal:** Adenokarsinom alanlarında, %43,1 (n=66) olguda luminal Lgr5 immunekspresyonu izlenmiştir.
- **Luminal dışı:** Adenokarsinom alanlarında, %24,2 (n=37) olguda luminal dışı Lgr5 immunekspresyonu izlenmiştir.

12.4.4. İHK belirteçlerinin birbirleri ile olan ilişkisi

CD44, ALDH-1, Lgr5 belirteçlerinin adenokarsinom alanlarında ekspresyonları (+/- olma durumları), boyanma şiddetleri, boyanma oranları ve dağılım paternleri birbirlerinden farklılık göstermektedir. İHK belirteçlerinin dağılımları, örnekler bazında Şekil 71-89'da gösterilmiştir.

12.5. Takip ve Sağkalım Analizleri

12.5.1. Klinikopatolojik değişkenler – sağkalım ilişkisi

Klinikopatolojik değişkenler ile sağkalım ilişkisi Tablo 25’te gösterilmiştir.

Histolojik tip, derece, mide duvar yayılımı, evre, lenf nodu tutulumu, lenfatik invazyon, vasküler invazyon ve lenfositik yanıt ile sağkalım arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (Şekil 48-55). İntestinal tip, düşük derece, erken duvar yayılımı ve erken evre adenokarsinomlarda artmış sağkalım saptanmıştır ($p<0,01$). Lenfatik invazyon, vasküler invazyon, lenf nodu tutulumu ve şiddetli lenfositik yanıt; azalmış sağkalım ile ilişkilidir ($p<0,01$).

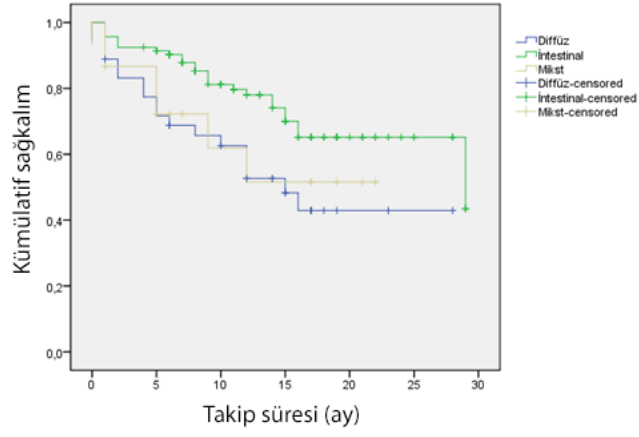
Cinsiyet, lokalizasyon, perinöral invazyon, perinodal yayılım ve desmoplastik yanıt ile sağkalım arasında anlamlı ilişki tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 25. Klinikopatolojik değişkenlerin sağkalım ile ilişkisi

Parametre	n	Ortalama sağ kalım		P
		Ay	%95 CI	
Cinsiyet				
Erkek	98	20,50±1,21	18,14–22,87	0,592
Kadın	46	19,96±1,83	16,39–22,54	
Tümör yerleşimi				
Proksimal	26	14,39±1,81	10,84–17,94	0,109
Distal	118	21,06±1,09	18,82–23,20	
Histolojik tip				
İntestinal	93	22,16±1,19	19,82–24,50	0,028
Diffüz	36	16,14±1,96	12,30–19,98	
Mikst	15	14,30±2,38	9,65–18,96	
Derece				
Düşük	87	22,06±1,24	19,62–24,50	0,031
Yüksek	57	17,28±1,56	14,22–20,34	
Duvar yayılımı (T)				
Erken (T1-2)	35	25,80±1,51	22,85–28,75	0,002
İleri (T3-4)	109	18,47±1,18	16,15–20,78	

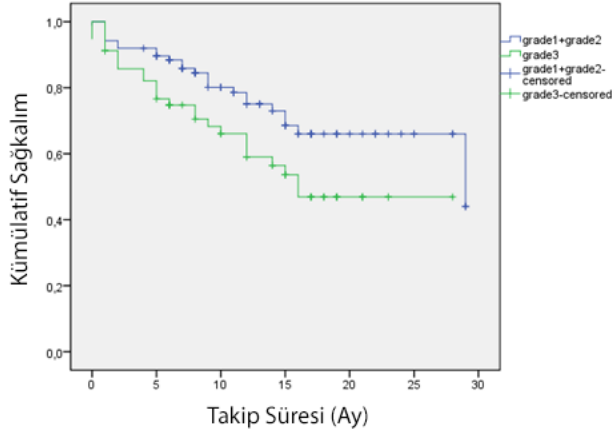
Lenf nodu tutulumu (N)				
N0	35	24,42±1,32	24,83-30,01	<0,001
N1	24	20,66±2,32	16,09-25,22	
N2	27	21,63±2,05	17,61-25,66	
N3a	39	18,16±1,86	14,52-21,81	
N3b	18	6,79±1,23	4,37-9,21	
Evre				
Erken	53	27,01±1,07	24,91-29,11	<0,001
İleri	91	16,07±1,30	13,52-18,63	
Lenfatik invazyon				
Yok	32	25,74±1,52	22,76-28,73	0,004
Var	112	18,65±1,18	16,35-20,96	
Vasküler invazyon				
Yok	71	23,47±1,21	21,08-25,83	0,001
Var	73	16,89±1,52	13,91-19,88	
Perinöral invazyon				
Yok	66	22,35±1,33	19,75-24,96	0,128
Var	76	18,40±1,49	15,48-21,33	
Perinodal yayılım				
Yok	29	17,13±2,21	12,79-21,46	0,676
Var	77	17,92±1,42	15,14-20,69	
Desmoplastik yanıt				
Yok	31	17,96±1,72	15,59-21,32	0,489
Hafif	44	18,19±2,08	14,11-22,26	
Orta	46	21,60±1,58	18,50-24,70	
Şiddetli	23	18,96±2,70	13,67-24,25	
Lenfositik yanıt				
Yok	49	15,56±1,37	12,88-18,23	0,030
Hafif	68	22,44±1,37	19,76-25,11	
Orta	22	21,69±2,41	16,97-26,41	
Şiddetli	5	7,73±2,82	2,20-13,27	
HP				
Yok	93	20,09±1,27	17,60-22,59	0,453
Var	44	21,35±1,77	17,88-24,82	

Histolojik Tip



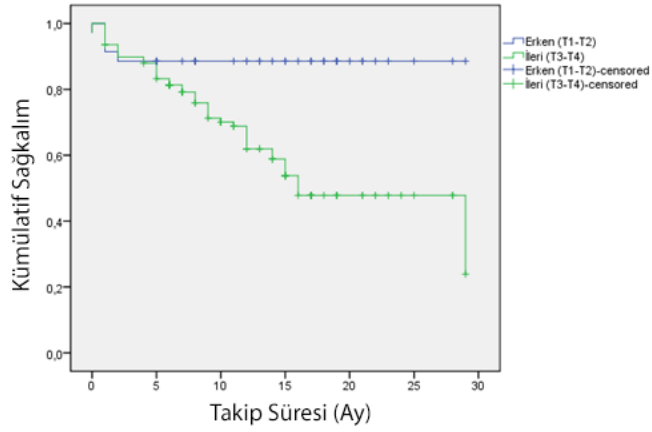
Şekil 48. Histolojik tip – sağkalım grafiği

Derece



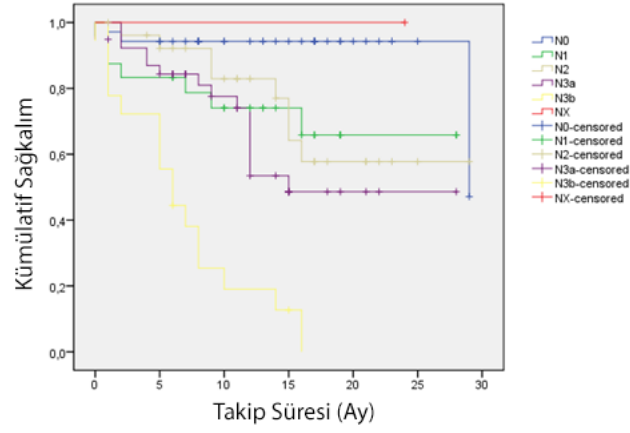
Şekil 49. Derece – sağkalım grafiği

Duvar Yayılımı (T)



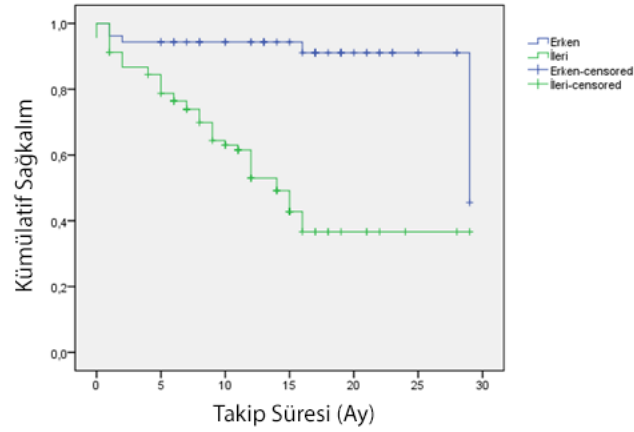
Şekil 50. Duvar yayılımı (T) – sağkalım grafiği

Lenf Nodu Tutulumu (N)



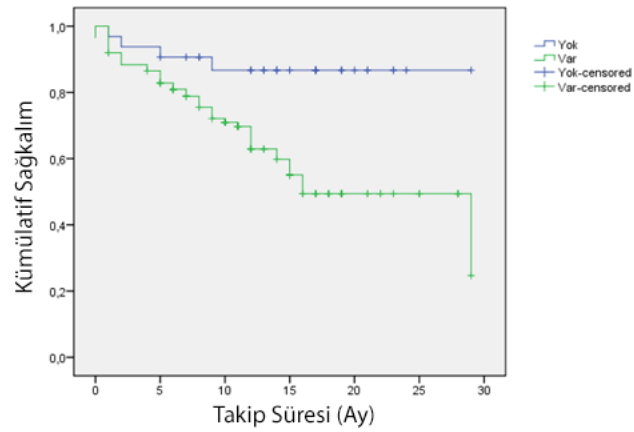
Şekil 51. Lenf nodu tutulumu (N) – sağkalım. grafiği

Evre



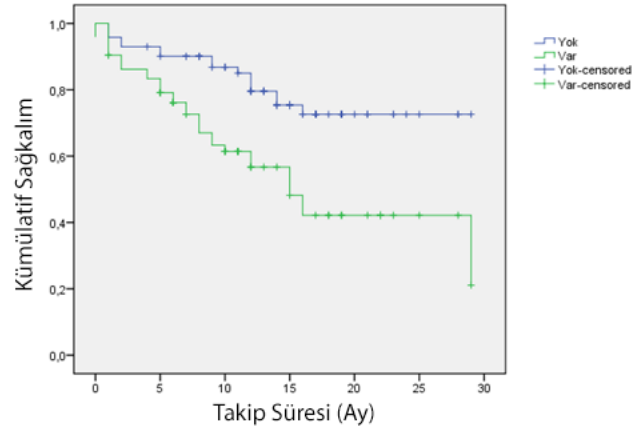
Şekil 52. Evre – sağkalım grafiği

Lenfatik İnvazyon



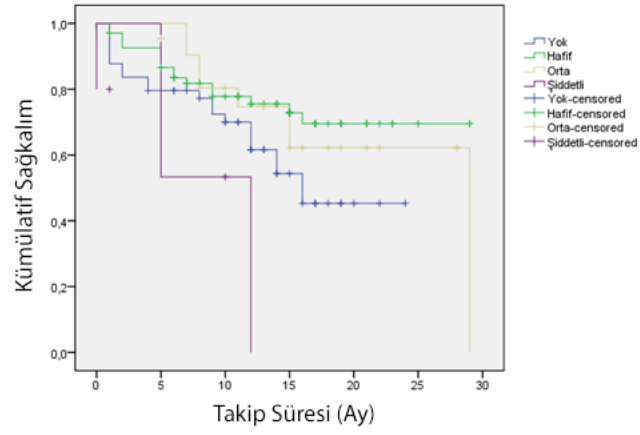
Şekil 53. Lenfatik invazyon – sağkalım grafiği

Vasküler İnvazyon



Şekil 54. Vasküler invazyon – sağkalım grafiği

Lenfositik Yanıt



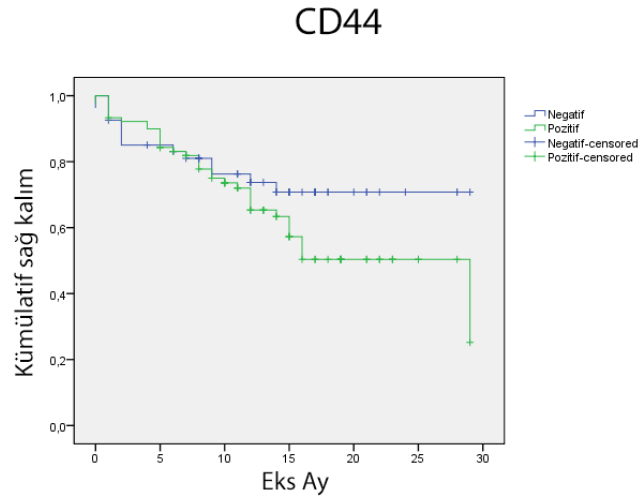
Şekil 55. Lenfositik yanıt – sağkalım grafiği

12.5.2. İHK belirteçleri – sağkalım ilişkisi

12.5.2.1. CD44 ekspresyonu – sağkalım ilişkisi

CD44 pozitifliği ile sağkalım arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Ancak 15'inci aydan sonraki takiplerde, CD44+ ve CD44- eğrilerinin arasının açıldığı grafik üzerinde gözlenmiştir (Şekil 56).

Toplam 90 CD44 (+) olgunun % 61,1'i (n=55) ve 54 CD44 (-) olgunun % 74,1'i (n=40) hayattadır. CD44 (+) olguların ortalama sağ kalım süresi $19,2\pm 1,3$ ay (% 95 güven aralığı: 16,7–21,7 ay) ve ortanca sağ kalım süresi $29,0\pm 7,9$ ay (% 95 güven aralığı: 13,5–44,5 ay) olarak saptanmıştır. CD44 (-) olgularda ise, ortalama sağ kalım süresi $22,1\pm 1,6$ ay (%95'lik güven aralığı: 19,0–25,2 ay) olarak bulunmuştur.

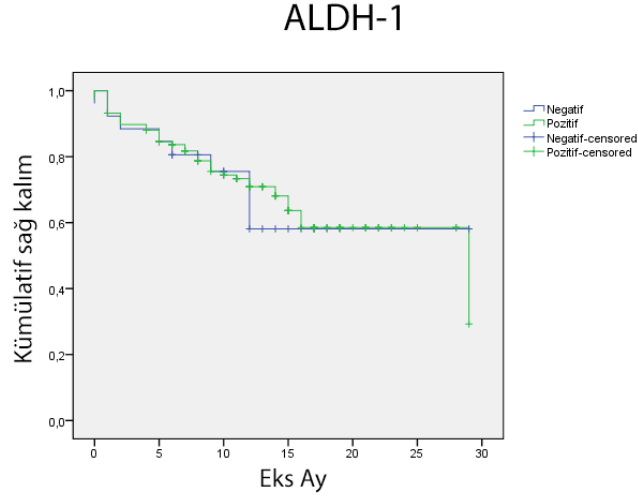


Şekil 56. CD44 ekspresyonu – sağkalım grafiği.

12.5.2.2. ALDH-1 ekspresyonu – sağkalım ilişkisi

ALDH-1 pozitifliği ile sağkalım arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 57).

Toplam 118 ALDH-1 (+) olgunun % 66,1'i (n=78) ve 26 ALDH-1 (-) olgunun % 65,4'ü (n=17) hayattadır. ALDH-1 (+) olguların ortalama sağ kalım süresi $20,4\pm 1,1$ ay (%95 güven aralığı: 18,3–22,6 ay) ve ortanca sağ kalım süresi $29,0\pm 9,3$ ay (%95 güven aralığı: 10,8–47,2 ay) olarak tespit edilmiştir. ALDH-1 (-) olgularda ise, ortalama sağ kalım süresi $20,0\pm 2,4$ ay (%95'lik güven aralığı: 15,3–24,6 ay) olarak bulunmuştur.

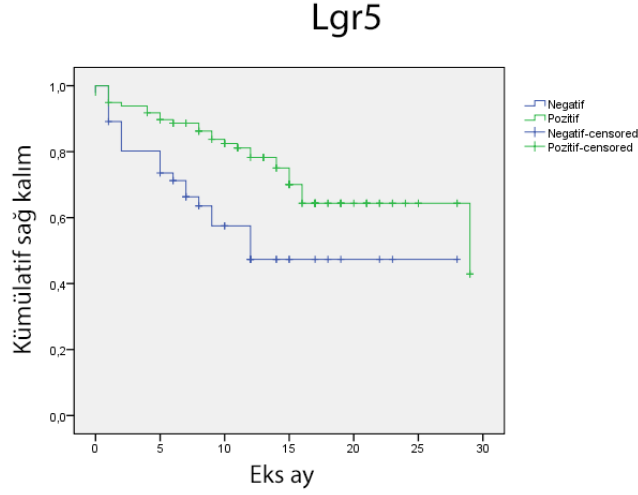


Şekil 57. ALDH-1 ekspresyonu – sağkalım grafiği

12.5.2.3. Lgr5 ekspresyonu – sağkalım ilişkisi

Lgr5 ekspresyonunun artmış sağkalım ile ilişkisi vardır ($p<0,05$) (Şekil 58).

Toplam 98 Lgr5 (+) olgunun % 71,4'ü ($n=70$) ve 46 Lgr5 (-) olgunun % 54,3'ü ($n=25$) hayattadır. Lgr5 (+) olguların ortalama sağ kalım süresi $22,1\pm 1,1$ ay (% 95 güven aralığı: 20,0–24,3 ay), ortanca sağ kalım süresi $29,0\pm 10,9$ ay (% 95 güven aralığı: 7,7–50,3 ay) olarak tespit edilmiştir. Lgr5 (-) olgularda ise, ortalama sağ kalım süresi $16,3\pm 1,8$ ay (% 95'lik güven aralığı: 12,7–19,9 ay) olarak bulunmuştur.



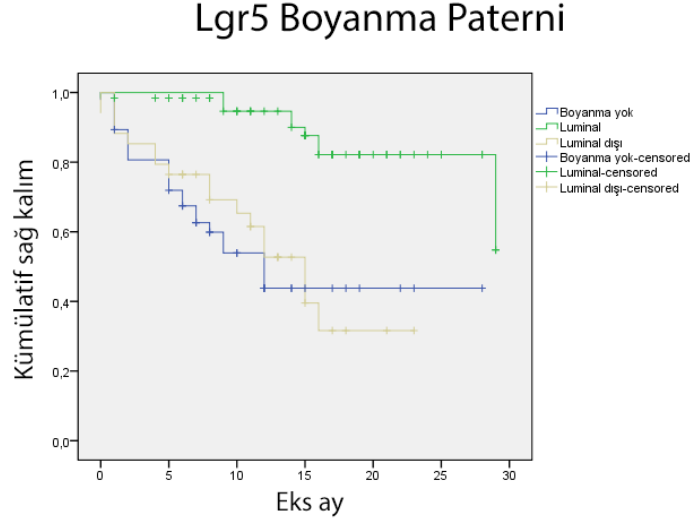
Şekil 58. Lgr5 ekspresyonu – sağkalım grafiği

12.5.2.4. Lgr5 boyanma paterni – sağkalım ilişkisi

Luminal özellikte Lgr5 boyanmasının artmış sağkalım ile istatistiksel ilişkisi saptanmıştır ($p<0,05$) (Şekil 59).

Toplam 63 lüminal Lgr5 (+) olgunun % 84,1'i ($n=53$), 35 lüminal dışı Lgr5 (+) olgunun %48,6'sı ($n=17$) ve 46 Lgr5 (-) olgunun %54,3'ü ($n=25$) hayattadır. Lüminal Lgr5 boyanan olguların ortalama sağ kalım süresi $26,1\pm 1,0$ ay (%95 güven aralığı: 24,0–28,1 ay) olarak bulunmuştur. Lüminal dışı Lgr5 boyanan olguların ortalama sağ kalım süresi $13,5\pm 1,5$ ay (%95 güven aralığı: 10,5–16,5 ay) ve ortanca

sağ kalım süresi $15,0 \pm 2,0$ ay (%95 güven aralığı: 11,2–18,9 ay) olarak tespit edilmiştir. Lgr5 negatif olguların ise, ortalama sağ kalım süresi $15,5 - 1,8$ ay (%95 güven aralığı: 12,0–19,1 ay) ve ortanca sağ kalım süresi $12,0 \pm 2,0$ ay (%95 güven aralığı: 8,0–16,0 ay) olarak bulunmuştur.



Şekil 59. Lgr5 boyanma paterni – sağkalım grafiği

12.5.3. Sağkalım üzerine Lgr5'in bağımsız etkisinin değerlendirilmesi

Lgr5 pozitifliği, artmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur ($p < 0,05$). Lgr5 pozitifliği aynı zamanda düşük derece, erken duvar yayılımı (T) ve erken evre ile de ilişkilidir ($p < 0,05$). Lgr5'in sağkalım üzerine derece, mide duvar yayılımı (T) ve evreden bağımsız etkisini sorgulamak için Cox regresyon analizi yapılmıştır.

Cox regresyon analizinde derece, mide duvar yayılımı (T) ve Lgr5'in sağkalım üzerine etkisi değerlendirildiği zaman, Lgr5 pozitifliğinin bağımsız iyi prognostik faktör olduğu saptanmıştır (Tablo 26).

Ancak; derece, evre ve Lgr5; Cox regresyon analizi kullanılarak değerlendirildiği zaman, Lgr5'in sağkalım üzerine bağımsız etkisi kaybolmuş, evre tek başına en güçlü prognostik parametre olarak kalmıştır (Tablo 27).

Tablo 26. Cox regresyon analizi (derece, duvar yayılımı, Lgr5 ekspresyonu değerlendirilmesi)

Değişken	P değeri	Risk Oranı(HR)	%95 Güven Aralığı
Duvar yayılımı(T)	0,014	3,6	1,29-10,40
Lgr5 pozitifliği	0,044	0,5	0,30-0,98

Tablo 27. Cox regresyon analizi (derece, evre ve Lgr5 ekspresyonu değerlendirilmesi).

Değişken	P değeri	Risk Oranı(HR)	%95 Güven Aralığı
Evre	<0,0001	7,61	3,00–19,35

12.6. Karsinogenez

12.6.1. Lgr5 – karsinogenez süreci

Karsinogenez süreci, 134 olguda çevre gastrik mukozada değerlendirilmiştir (Şekil 90-108). Değerlendirme kapsamında, normal (gastrik mukoza/gastrit) (n=68), intestinal metaplazi (n=94), displazi (n=25) alanlarında ayrı ayrı Lgr5 total skoru hesaplanmıştır. İntestinal tip ve mikst tip karsinomların intestinal morfoloji gösteren alanları (n=115) benzer yöntemle skorlanmış ve Lgr5 total skoru belirlenmiştir.

Lgr5 pozitif hücreler normal mide mukozasında kript bazallerinde yer alırken, intestinal metaplazide yüzeye doğru yer değiştirme ve sayıca artış gözlenmiştir. Lgr5 pozitif hücreler displazi odaklarında bazalde ve/veya yüzeyde yer almaktadır olup, tümör içinde luminal, invazyon alanı veya diffüz olarak dağılmışlardır (Şekil 92-97).

Karsinogenez sürecinde; normal, intestinal metaplazi, displazi, adenokarsinom gruplarına ait elde edilen ortalama Lgr5 total skorları sırası ile 3,59; 4,48; 6,52 ve 6,19'dur (Şekil 60). Lgr5 total skor ortalamalarında normal mukozadan displaziye doğru artış izlenmiş, ancak benzer artış displaziden karsinoma geçişte gözlenmemiştir. Displazili olgularda normal-intestinal metaplazi-displazi-neoplazi Lgr5 total skorları Tablo 28'de yer almaktadır. Olgular tek tek değerlendirildiğinde,

olgu bazında, displaziden tümöre geçişte Lgr5 şiddetinde genel olarak artış tespit edilmiştir (Şekil 98-103). Ancak displazi-tümör geçişinde Lgr5 boyanmasının tamamen ortadan kalktığı olgular da vardır (Şekil 104-107). Displazili olgularda displazi-adenokarsinom boyanma şiddeti ve boyanma yüzdeleri Tablo 29'da yer almaktadır.

Tablo 28. Normal-intestinal metaplazi-displazi-neoplazi: total skorlar

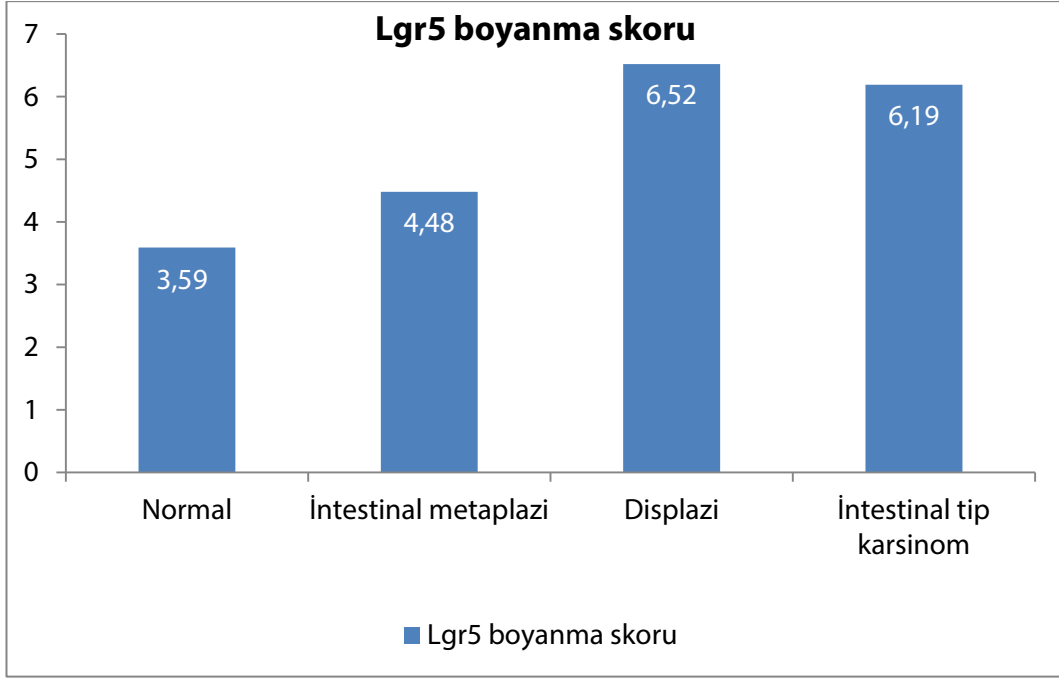
Displazi (+) olgu	Normal mukoza	İntestinal metaplazi	Displazi	Neoplazi
1	0	4	5	10
2	7	7	8	7
3	*	6	7	11
4	4	*	9	0
5	*	0	9	8
6	*	4	4	12
7	*	4	7	10
8	*	0	4	0
9	*	0	7	11
10	*	*	5	8
11	*	7	12	11
12	4	4	7	9
13	4	5	5	8
14	*	*	6	8
15	*	4	9	9
16	*	*	5	6
17	*	4	5	12
18	*	6	7	0
19	*	*	6	10
20	6	*	10	7
21	7	8	10	0
22	0	4	0	0
23	0	6	0	7
24	*	*	9	7
25	*	6	7	10

*: Değerlendirilemedi

Tablo 29. Displazi-adenokarsinom: boyanma şiddeti ve boyanma yüzdesi

Displazi (+) olgu	Displazi boyanma şiddeti	Displazi boyanma yüzdesi	Adenokarsinom boyanma şiddeti	Adenokarsinom boyanma yüzdesi
1	Hafif	%1-5	Orta	<%10
2	Orta	%5-10	Orta	<%10
3	Orta	%5-10	Şiddetli	<%10
4	Orta	%5-10	Negatif	Negatif
5	Orta	%5-10	Orta	<%10
6	Hafif	%1-5	Şiddetli	>%50
7	Orta	%5-10	Şiddetli	<%10
8	Hafif	%1-5	Negatif	Negatif
9	Şiddetli	%1-5	Şiddetli	<%10
10	Hafif	%5-10	Şiddetli	<%10
11	Şiddetli	>%10	Şiddetli	<%10
12	Orta	%5-10	Şiddetli	%10-25
13	Orta	%1-5	Orta	<%10
14	Orta	%5-10	Şiddetli	<%10
15	Orta	%5-10	Şiddetli	%10-25
16	Hafif	%1-5	Orta	<%10
17	Orta	%1-5	Orta	>%50
18	Şiddetli	%5-10	Negatif	Negatif
19	Hafif	%5-10	Şiddetli	>%50
20	Orta	>%10	Şiddetli	<%10
21	Orta	>%10	Negatif	Negatif
22	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
23	Negatif	Negatif	Orta	<%10
24	Orta	>%10	Şiddetli	<%10
25	Şiddetli	%1-5	Orta	%25-50

Tabloda yer alan 4, 8, 18, 21 ve 22 no'lu displazili olgularda, displazi odağında Lgr5 ile boyanma izlenmesine karşın, neoplazi odağında Lgr5 ile boyanma izlenmemiştir (Şekil 104-107).



Şekil 60. Karsinogenez sürecinde Lgr5 skorlarının dağılımı.

13. TARTIŞMA

Mide kanseri, tüm dünyada en sık görülen dördüncü kanserdir. Mide kanserine bağlı ölümlerde son yıllarda düşüş görülmekle beraber, kanser nedeniyle ölümler arasında mide kanseri hala ikinci sırada yer almaktadır. İleri evrede tanı alması ve kemoterapiye direnç, mide kanserinin kötü prognozundan sorumludur⁷. Mortaliteyi azaltmak için ana hedef, kanser öncül lezyonlarının tanı ve tedavisi ile mümkündür. Mide kanserinin etyolojik faktörlerini, patogenezi, genetik mekanizmalarını daha yakından incelemek ve karsinogenez süreci hakkında çok daha fazla bilgi sahibi olmak gerekmektedir. Bu nedenle, mide kanseri patogenezi yakın zamanda merak edilen ve üzerinde çalışılan konulardan birisi olmuştur^{7,22}.

Distal yerleşimli, intestinal tip kanserlerde; atrofi, metaplazi ve displazi takip eden karsinogenez süreci olduğu kabul edilmektedir. Düşük risk grubunda ve daha genç yaşlarda görülen diffüz tip kanserlerde ise, *H. pylori* ve diğer çevresel faktörlerin etkin olmadığı ve tanımlanmış özgül bir prekürsör lezyonun bulunmadığı ileri sürülmektedir^{4,253}. Son yıllarda, distal yerleşimli mide kanserlerinin aksine, özellikle kardiya yerleşimli kanserlerde görülen artış dikkat çekicidir. Proksimal yerleşimli kanserler; sosyoekonomik düzeyi yüksek, obez hastalarda daha sıktır ve *H. pylori* ile ilişkisi saptanamamıştır. Bu epidemiyolojik veriler, gastrik kanserin heterojen bir hastalık grubu olduğunu düşündürmektedir¹¹⁶.

Mide karsinogenezinde temel olarak iki farklı model bulunmaktadır: Stokastik model (rastlantısallık modeli) ve *kanser kök hücre* modeli. Stokastik modele göre tümör dokusundaki bütün hücreler aynı derecede tümör oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Ancak kök hücre modelinde, kanser embriyonik artıklardan ve/veya kök/öncül hücrelerden gelişir²⁵⁶. Normal gastrik mukozada; midedeki kök hücrelerin farklılaşması ile farklı özellikte ve görevlere sahip hücrelerin meydana geldiği bilinmektedir. Morfolojik olarak mide adenokarsinomlarında, normal gastrik mukozadaki gibi, heterojen yapıda neoplastik hücre popülasyonu izlenebilmek-

tedir. Mide adenokarsinomlarında da, kök hücrelerin anormal ve kontrolsüz bir biçimde çoğalması ve normal gastrik mukozaya benzer şekilde farklılaşması ile heterojen yapıda tümörlerin geliştiği düşünülebilir. Bu görüş, mide kanser kök hücre teorisinin temelini oluşturmaktadır²³.

Kanser kök hücreleri, normal mide kök hücreleri ile benzer özelliklere sahiptir. Bu özellikler; kendi kendini yenileyebilme (simetrik ve asimetric bölünme) ve farklılaşma gösteren diğer kanser hücrelerini oluşturabilme yeteneğidir^{137,257}. Mide kanserinde, cerrahi ve kemoterapiye rağmen kür sağlanamaması, relapsların görülmesinde kanser kök hücrelerinin varlığı sorumlu tutulmaktadır²⁵⁸. Günümüzde uygulanan kemoterapiler, tümörün ana kitlesini oluşturan, hızla bölünen kanser hücrelerini hedef almaktadır. Kanser kök hücrelerinin kemoterapötiklere karşı gösterdiği dirençten, kanser kök hücrelerinin farklılaşmış kanser hücreleri gibi sürekli bölünmemeleri ve sessiz fazda beklemeleri (*quiescence*) sorumlu tutulmaktadır. Konvansiyonel kemoterapötik ilaçların hızlı bölünüp çoğalan hücrelere etkili olduğu düşünülürse, bu direnç açıklanabilir²⁴⁴. Ancak, kanser hücre popülasyonunun küçük bir kısmını oluştursa da, bu kanser kök hücrelerine odaklanmak, belki de kanser tedavisinde yeni bir çığır açacaktır¹³⁵.

Kanser kök hücrelerinin varlığı, 1800' lü yılların sonunda ileri sürülmüş, ancak malign kök hücrelerin izolasyonu ilk kez 1994 yılında gerçekleşmiştir. Bonnet ve Dick tarafından, akut myeloid lösemili hastadan izole edilen kanser kök hücrelerinin, toplam kanser hücre popülasyonunun sadece %0,01-1'ini oluşturdukları görülmüştür. Bu hücrelerin, deneysel olarak immün yetmezlik oluşturulmuş farelere verilmesinin, lösemi oluşturduğu gösterilmiştir. Dick ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışma, kanser kök hücre teorisinin miladı olarak kabul edilmektedir¹³⁶. Solid tümörlerde ise ilk çalışma, 2000'li yılların başında meme kanserinde yapılmıştır¹⁴³.

Kanser kök hücreleri, özel besiyerlerinde küresel koloni oluşturabilme yetenekleri ile *in vitro* yöntemle belirlenebilirler. *In vivo* olarak ise, immün yetmezlikli deney farelerinin deri veya organlarına implante edilmeleri sonrasında tümör oluşturmaları ile saptanabilirler¹³⁷. Ayrıca, kanser kök hücrelerinin yüzey belirteçleri ile belirlenebildiği gösterilmiştir^{177,259}. En iyi bilinen yüzey belirteçleri, CD44 ve CD133'tür. Başta meme kanseri olmak üzere, kolon, beyin, karaciğer, prostat, pankreas kanserleri ve melanomda kanser kök hücre işaretçisi olarak kullanılmışlardır^{172,175,197}. CD133, ilk kez beyin tümörlerinde tanımlanmış ve immün yetmezlikli fare modelinde, 100 adet CD133 pozitif hücrenin orijinal tümör oluşturduğu gösterilmiştir^{6,181}.

Mide kanserinde ilk kök hücre çalışması, Takaishi ve arkadaşları tarafından 2009 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada, çeşitli gastrik kanser hücre kültürleri incelenmiş ve CD44(+) hücreler izole edilmiştir. Bu hücrelerin özel besiyerlerinde küresel koloni ve immün yetmezlikli fare modelinde tümör oluşturdıkları gözlemlenmiştir.⁸ Aynı yıl içinde, Fukada ve arkadaşları, akım sitometri yöntemi ile gastrik hücre kültürlerinde yan popülasyon olan hücreleri izole etmiş, bunların kök hücre özellikleri gösterdiklerini ve kemoterapiye dirençli olduklarını göstermişlerdir²⁶⁰. Rocco ve arkadaşları, CD133 ve CD44 belirteçleri kullanarak mide tümör dokularından akım sitometri yöntemi ile kanser kök hücreleri izole etmişlerdir. Ancak, Fukada ve arkadaşlarının aksine, bu yüzey moleküllerinin ikisini birden içeren hücrelerin periton ve ciltaltına verildiklerinde deney farelerinde tümör oluşturmadıklarını saptamışlardır²⁶¹.

Literatürde, hangi belirteçin kanser kök hücrelerini gösterdiği konusu tartışmalıdır. Çoğu normal doku kök hücrelerinde tanımlanmış belirteçlerin, kanser kök hücrelerini belirlemesi kesinlik kazanmamıştır⁸. Ayrıca, kanser kök belirteçlerinin ne kadar spesifik olduğu da bilinmemektedir¹³⁷. Tümörün büyüyüp gelişmesinde, kanser kök hücrelerinin tümör mikroçevresinden etkilendiği bilinmektedir⁹⁴. Günümüzde kök hücre teorisi konusunda yapılmış çalışmalar ve elde edilmiş

kanıtların çoğu immunsuprese fare modeli üzerindedir. İn vitro kök hücre modelinin, in vivo koşullarda geçerliliği tartışmalıdır²⁵⁷.

Bu doğrultuda kanser kök hücreleri konusunda yapılacak çalışmaların yeni gelişmelere zemin hazırlayacağı düşünülmektedir. Çalışmamızda mide adenokarsinomlarında kök hücre işaretçileri oldukları düşünülen, CD44, ALDH-1 ve Lgr5 immunekspresyonu tümör ve tümör çevresi gastrik mukozada incelenmiştir. CD44, ilk tanımlanmış ve en iyi bilinen kök hücre işaretçisi olduğu için çalışmamıza alınmıştır¹⁷⁷. ALDH-1'in tercih edilme nedeni ise, CD44'ün aksine literatürde ALDH'in mide adenokarsinomlarında kök hücre işaretçisi olarak kullanıldığı sadece iki tane çalışma bulunmasıdır^{9,190}. Yakın zamanda Lgr5'in gastrik karsinogenezdeki rolünü inceleyen çalışmalar^{9,190} karsinogenez sürecindeki incelememize Lgr5'i de dahil etmemize neden olmuştur.

Çalışma kapsamına aldığımız ve kök hücre belireteçleri uyguladığımız 153 olgunun klinikopatolojik profili, mide kanseri literatüründe tanımlanmış ve kabul edilmiş parametreler ile örtüşmektedir. Diffüz histolojik tipe sahip olguların ileri duvar yayılımı ve ileri evreye sahip olduğu, daha sık perinöral invazyon gösterdiği görülmüştür. Yüksek dereceli olguların ileri duvar yayılımı, ileri lenf nodu tutulumu ve ileri evreye sahip olduğu görülmüş, perinöral invazyon ve desmoplastik yanıt ile ilişkili oldukları saptanmıştır. İleri evrenin lenfovasküler/perinöral invazyon, perinöral yayılım ve desmoplastik yanıt ile ilişkili olması da literatürle uyumlu olarak değerlendirilmiştir^{39,86}.

Klinikopatolojik değişkenler ile sağkalım ilişkisi incelendiğinde ise, olgularda intestinal tip, düşük derece, erken duvar yayılımı, erken evre ve hafif şiddette lenfositik yanıt varlığı artmış sağkalım ile ilişkili bulunmuş; lenfovasküler invazyon, lenf nodu tutulumu ve şiddetli lenfositik yanıt varlığında azalmış sağkalım tespit edilmiştir. Çalışmamızda saptığımız bu bulgular literatür ile uyumludur^{86,262}.

CD44, ekstrasellüler matriksin bir elemanı olan hyaluronik asit reseptörüdür. Hücre içi Wnt-beta katenin yolağının hedefi olduğu bilinmektedir. İlk olarak meme kanseri kök hücrelerinde gösterilmiş bir belirteçtir^{8,143}.

CD44'ün, literatürde henüz kanser kök hücresi belirteçi olarak tanımlanmamışken, farklı tip kanserlerde klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisine değinilmiştir^{263,264}. Mide kanserinde prognoz ilişkisinden, ilk kez 1993 yılında Mayer ve arkadaşlarının Lancet'te yayınlanan çalışmasında bahsedilmiştir. İncelenen 120 gastrik karsinom olgusunda, CD44 pozitifliği ile düşük derece, intestinal morfoloji ve artmış mortalite ilişkili bulunmuştur¹⁰. Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, artmış CD44 ve CD133 ekspresyonu ile, ileri evre ve metastaz arasında ilişki saptanmıştır¹⁷⁶. Jung ve arkadaşlarının bir çalışmasında ise, CD44'ün klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi gösterilememiş, ancak CD44'ün tek başına kötü prognostik faktör olduğu belirtilmiştir²⁶⁵. Wakamatsu ve arkadaşları, CD44 pozitifliğini, kötü prognostik parametreler ve azalmış sağkalım ile ilişkili bulmuşlardır⁹. Chen ve arkadaşlarının 2000'in üzerinde olguyu kapsayan meta-analiz çalışmasında, CD44 pozitifliğinin, lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu saptanmış ve kötü prognostik belirteç olduğu sonucuna varılmıştır²⁶⁶.

CD44 pozitifliği olgularımızın %62,7'sinde (n=96) saptanmıştır. Bu oran literatürde, Chen ve arkadaşlarının çalışmasında %18¹⁷⁶, Wakamatsu ve arkadaşlarının çalışmasında %62⁹, Dhingra ve arkadaşlarının çalışmasında %51¹⁷⁷ olarak bildirilmiştir. CD44 pozitiflik oranlarının literatürde farklılık göstermesi, İHK değerlendirilmesinde kullanılan kriterlere bağlı olabilir.

Çalışmamızda CD44 pozitifliği; intestinal morfoloji, lenfatik invazyon, vasküler invazyon ve ileri mide duvarı tutulumu (T) ile ilişkili bulunmuştur. CD44 ekspresyonu ile ilişkili sonuçlarımız literatürdeki çalışmalar ile benzerlik göstermektedir^{177,266}.

Çalışmamızda CD44 pozitifliği desmoplastik yanıt ile de ilişkili bulunmuştur. Literatürde, mide kanserinde desmoplastik yanıt ile CD44 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi gösteren başka çalışma bulunmamaktadır. Ekstrasellüler matriksin bir elemanı olan ve fibroblastlarca sentezlenen hyaluronanın reseptörü olması, CD44'ün desmoplastik yanıt ile olan ilişkisini açıklayabilir²⁶⁷.

Chen ve arkadaşları çalışmalarında, mide kanserinde CD44 ve CD133 ekspresyonunun, kısa sağkalım ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir¹⁷⁶ Dhingra ve arkadaşları ise diğer araştırmacıların aksine, CD44 (+) grubun, (-) gruba göre artmış sağkalım gösterdiğini söylemişlerdir¹⁷⁷. Sanaat ve arkadaşlarının çalışmasında da, Dhingra'nın çalışması ile benzer olarak, CD44 pozitifliği artmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur²⁶⁸. Literatürdeki bu bilgiler ışığında, CD44'ün sağkalım üzerindeki etkisi tartışmalıdır

Çalışmamızda, sağkalım analizlerinde, CD44'ün sağkalım üzerine etkisi saptanmamıştır ($p>0,05$). Ancak takibin 15. ayından sonra CD44 (-) ve CD44 (+) gruplara ait sağkalım eğrileri arasındaki açılma, daha uzun takip ile CD44 pozitifliğinin sağkalım üzerine olumsuz etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

2011 yılında Jang ve arkadaşlarının yayınladığı derlemede, CD44'e karşı geliştirilmiş olan monoklonal antikor olan bivatuzumabın baş boyun skuamöz hücreli karsinomları ve meme kanserindeki henüz deneme aşamasında olan kullanımından bahsedilmiştir¹⁷¹. Benzer yaklaşım, CD44(+) mide kanseri tedavisinde uygulama alanı bulabileceği için, mide adenokarsinomlarında CD44 immünekspresyonunun değerlendirilmesi ve rutin patoloji raporlarında yer alması tedavi açısından yönlendirici olabilir.

Chen ve arkadaşları, normal mide mukozası ile karşılaştırıldığı zaman kanserli dokularda, CD44 ve CD133 ekspresyonunun anlamlı derecede arttığını göstermiştir¹⁷⁶. Dhingra ve arkadaşları ise CD44 ve Nestin ekspresyonunu incelemişler, normal mukoza ile karşılaştırıldığında intestinal metaplazi ve adenokarsinom-

da anlamlı derecede artmış ekspresyon saptamışlardır¹⁷⁷. Arıcı ve arkadaşları, normal mide mukozasında CD44 ile zayıf, tümöral dokularda kuvvetli boyanma tespit etmişlerdir. Bu durum araştırmacılara CD44'ün neoplastik dönüşümde rolü olabileceğini düşündürmüştür¹⁷⁸. Bizim çalışmamızda, gözlemciler arası uyumun düşük olması nedeniyle, mide adenokarsinomu çevresindeki gastrik mukozada CD44 ekspresyonunun değerlendirme dışında tutulması ve tez kapsamına alınmaması daha uygun bulunmuştur. Ancak iki gözlemcinin birlikte değerlendirmesi ile bu uyumsuzluğun aşılabileceğini ve sonrasında CD44 ekspresyonunun karsinogenez sürecindeki rolünün tartışılabilceğini düşünüyüyoruz.

ALDH-1, az çalışılmış bir kök hücre belirteçidir. Sitoplazmada, detoksifikasyon ve ilaç direncinden sorumlu olan enzim ailesi içinde yer alır. Mide kanserinde ise ALDH-1 ile yapılmış sınırlı sayıda çalışma mevcuttur^{9,190}.

ALDH-1 2000'li yılların sonlarında meme, kolon, pankreas, prostat gibi çeşitli organların kanserlerinde gösterilmiş bir kanser kök hücre belirteçidir^{161,215,269}. 2014'te yapılan bir çalışmada, meme kanserinde ALDH1+ hücrelerin prognozu belirlemede CD44+ fenotipe göre daha üstün olduğu gösterilmiştir¹⁴. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda meme, serviks, prostat, kolorektal, prostat ve over karsinomlarında ALDH-1 ekspresyonu, kötü prognoz ve azalmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur^{15,16,188,270}. Ancak özofagus ve mesane karsinomlarında, sağkalım ile ilişki tespit edilmemiştir^{189,271}.

Mide karsinomlarında, İngilizce literatürde, ALDH-1 ile yapılmış sadece iki tane çalışma bulunmaktadır. Katsuno ve arkadaşlarının 2012 yılında yayınlanan çalışmasında, diffüz tipte mide kanseri dokularından izole edilmiş ALDH-1(+) hücrelerin Reg-4 ile korele olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, CD44 ve CD133 ekspresyonunun, ileri evre ve azalmış sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiş ancak ALDH-1 in prognoz üzerine etkisi saptanamamıştır¹⁹⁰. Wakamatsu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, mide karsinomu olgularının

%50'den fazlasında ALDH-1 pozitifliği tespit edilmiş ve özellikle diffüz tip mide-kanserinin lenf nodu tutulumunda belirgin ALDH-1 ekspresyon artışı olduğu saptanmıştır⁹.

Genellikle mide kök hücre çalışmalarında diffüz tip ile kök hücre belirteçleri arasındaki ilişki bahsedilmemiş olması, literatürdeki bu iki çalışmada ise özellikle diffüz tipin ALDH-1 belirteci ile ilişkilendirilmesi nedeniyle çalışmamıza ALDH-1 kök hücre belirtecini de dahil etmeyi uygun bulduk.

Olgularımızdaki ALDH-1 pozitifliğini %81,7 (n=125) olarak tespit ettik. Bu oran literatüre göre yüksektir. Bu oran, Wakamatsu ve arkadaşlarının çalışmasında %55 olarak bildirilmiştir⁹.

ALDH-1 in çeşitli klinikopatolojik değişkenler ve sağkalım ilişkisini incelediğimizde ALDH-1 pozitifliğinin; düşük derece ve perinodal yayılım ile ilişkisini saptadık, ancak histolojik tip ile ilişkisini gözlemledik. Sağkalım sonuçlarımız, Katsuno ve arkadaşlarına benzer şekilde, ALDH-1 ve sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmadığını göstermektedir¹⁹⁰.

Bulgularımız arasında dikkat çekici olan, ALDH-1 ile tümör yerleşim ilişkisi olmuştur. Proksimalde yerleşen olguların; yani kardiya ve bileşke tümörlerinin bir tanesi haricinde tamamı, ALDH-1 ile (+) ekspresyon göstermiştir. Bu doğrultuda, proksimal gastrik mukozada ALDH-1 (+) ayrı bir kanser kök hücre popülasyonu olduğu düşünülmüştür.

Lgr5, glikoprotein yapıli hormon reseptör ailesinden olup, yedi sarmallı G proteini ile eşli bir reseptördür. Lgr5, gastrointestinal sistemde, Barker ve arkadaşları tarafından oldukça yeni tanımlanmış olan bir kök hücre belirteçidir²⁷². Sato ve arkadaşları, 2009 yılında yaptıkları çalışmada, tek bir Lgr5 (+) hücrenin in vitro barsak benzeri yapı oluşturabildiğini göstermişlerdir²⁰⁶.

2010 yılında Barker ve arkadaşları midede Lgr5+ hücrelerin sürekli bölünen ve gastrik epitelin yenilenmesinden sorumlu kök hücreler olduğu, ayrıca bu

Lgr5+ hücrelerde APC inaktivasyonunun pilorik mukozada tümör oluşturduğunu göstermişlerdir¹¹. Bu bulgular, normal mide mukozası kök hücrelerinin yanısıra, Lgr5'in mide kanser kök hücrelerini belirlemede en olası yüzey belirteci olduğunu düşündürmektedir¹².

Literatürde, mide dışı organ kanserlerinde, Lgr5 ekspresyonunun çeşitli prognostik değişkenler ve sağkalım ile olan ilişkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar birbirinden farklılık göstermektedir. 2010 yılında, Fan ve arkadaşlarının çalışmasında kolon adenom ve karsinomlarında Lgr5 ekspresyonu ile derece ve evre dahil olmak üzere klinikopatolojik değişkenler ile ilişkisi incelenmiş anlamlı bir ilişki saptanmamıştır²⁷³. 2011 yılında, Takeda ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kolorektal kanserlerde Lgr5 ekspresyonu ile klinikopatolojik değişkenler arasında ilişki saptanmamış, ancak özellikle Lgr5'in uminal ekspresyonunun düşük derece ve düşük evreye sahip kanserlerde görüldüğü belirtilmiştir²⁷⁴. Bunun aksine Wu ve arkadaşlarının 2012 yılında yayınlanan çalışmalarında, kolorektal kanserlerde Lgr5 ekspresyonu, yüksek derece, ileri evre, lenf nodu metastazı ve azalmış sağkalım ile ilişkili bulunmuş ve Lgr5 ekspresyonu tek başına kötü prognostik belirteç olarak kabul edilmiştir²⁷⁵. Liu ve arkadaşlarının 2014 yılında yayınlanan çalışmasında, hem fare hem de insan kolon karsinomlarında incelenen Lgr5 ekspresyonunun, ileri duvar yayılımı (T) ve azalmış sağkalım ile ilişkisi gösterilmiştir²⁷⁶. Akciğer adenokarsinomlarında, Lgr5 ekspresyonu TTF-1 negatifliği, ileri evre ve azalmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur²¹³. 2013 yılında, Nakata ve arkadaşlarının grade I-IV beyin tümörlerinde yaptığı çalışmada, Lgr5 ekspresyonunun özellikle glioblastom olgularında görüldüğü ve Lgr5 (+) olguların, Lgr5 (-) gruba gruba göre azalmış sağkalım gösterdiği belirtilmiştir²⁷⁷.

Mide kanserlerinde Lgr5 ekspresyonunun çeşitli klinikopatolojik değişkenler ve sağkalım ile olan ilişkisini inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır^{12,278,279}. 2013 yılında Zheng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Lgr5 ekspresyonu ileri yaş (>60), intestinal morfoloji ve düşük evre ile ilişkili bulunmuştur²⁷⁹. Aynı yıl, Jang ve

arkadaşları, çalışmalarında Lgr5 ekspresyonunun düşük derece ve intestinal tip mide kansinomlarında görüldüğünü belirtmişlerdir²⁷⁸.

Olgularımızdaki Lgr5 pozitifliğini %67,3 (n=103) olarak tespit edilmiştir. Bu oran, Zheng ve arkadaşlarının çalışmasında %53²⁷⁹, ve Simon ve arkadaşlarının çalışmasında %90¹² olarak bildirilmiştir. Wu ve arkadaşlarının çalışmasında ise, Lgr5 pozitifliği iyi diferansiye adenokarsinom olgularında %100, orta diferansiye adenokarsinom olgularında %97,5, ve kötü diferansiye adenokarsinom olgularında ise %10,4 olarak saptanmıştır²⁷⁵.

Çalışmamızda klinikopatolojik değişkenler ile Lgr5 immunekspresyonu ilişkisi incelendiğinde; Lgr5 pozitifliği ile, düşük derece, düşük evre ve sınırlı mide duvarı yayılımı (erken T) arasında ilişki saptanmıştır. Bu bulgularımız, literatürde yer alan mide kanserlerinde Lgr5 ekspresyonunun incelendiği çalışmalar ile benzerlik göstermektedir^{12,278,279}. Olgularımızda Lgr5 pozitifliği intestinal tip adenokarsinomlarda daha sık görülmekle birlikte, Lgr5 ekspresyonu ile histolojik tip arasındaki ilişki istatistiksel anlamlılık kazanmamıştır.

Çalışmamız, ayrıca Lgr5 pozitifliğinin gastrik adenokarsinomlarda artmış sağkalım ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Olgularımızda Lgr5 pozitifliğinin özellikle düşük derece ve sınırlı tümör yayılımı (erken T) gibi gastrik adenokarsinomlarda iyi prognostik faktör olarak kabul edilen parametrelerle ilişkisi gözönüne alındığı zaman, Lgr5'in sağkalıma bağımsız etkisini araştırmak amacıyla Cox regresyon analizi uygulanmıştır. Bu analiz sonucunda, Lgr5 ekspresyonunun, düşük derece ve erken duvar yayılımdan bağımsız, iyi prognostik parametre olduğu görülmüştür. Ancak Lgr5 ile evrenin etkisi birlikte sorgulandığında, Lgr5'in sağkalım üzerine tek başına bağımsız etkisi gösterilememiştir.

Lgr5'in adenokarsinom alanlarında boyanma özellikleri gözlendiği zaman, olguların % 45'inde luminal yüzeydeki keskin sınırlı boyanma paterni dikkati çekmiştir. Lgr5'in sağkalım üzerine etkisinin boyanma paterni ile olası ilişkisini

saptamak amacıyla, Lgr5 (+) adenokarsinom olguları, luminal ve luminal dışı immünekspresyon gösteren şeklinde iki gruba ayrılarak sağkalım analizi tekrarlanmıştır. Luminal Lgr5 immünekspresyonu gösteren olguların, luminal dışı immünekspresyon gösteren olgulara göre belirgin sağkalım avantajı kazandığı görülmüştür. Luminal dışı Lgr5 immünekspresyonu gösteren olgular ile Lgr5 (-) olgular arasında sağkalım açısından anlamlı farklılık ortadan kalkmıştır.

Literatürde bizim sonuçlarımıza benzer olarak, kolon ve mide kanserlerinde Lgr5 pozitifliği ile artmış sağkalım ilişkisi saptayan çalışmalarda, immünekspresyonun özellikle luminal yüzeyde izlendiği vurgulanmıştır^{12,274}. 2012 yılında Simon ve arkadaşları tarafından yapılan yüz mide adenokarsinom olgusunu kapsayan çalışmada, Lgr5 ekspresyon lokalizasyonunun klinikopatolojik değişkenler ve sağkalım ile olan ilişkisi incelenmiştir. Bu çalışmada Lgr5 immünekspresyonu lokalizasyonu; luminal yüzey, tümör merkezi ve invazyon sahası şeklinde üç kategoriye ayrılmıştır. Luminal yüzeydeki Lgr5 immünekspresyonu, düşük derece ve erken evre karsinomlarda görülürken, tümör merkezi ve invazyon alanında Lgr5 ekspresyonu gösteren olgularda, ileri tümör yayılımı (ileri T), ileri evre ve artmış lenf nodu tutulumu (ileri N) saptanmıştır. Sağkalım analizlerinde ise Lgr5 ekspresyonunun luminal yüzeyde görülmesi artmış, buna karşın invazyon alanında görülmesi azalmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur¹².

Literatürdeki çalışmalarda, kanser kök hücrelerini göstermede, genellikle birden fazla belirteç kullanılmıştır^{8,164}. Wu ve arkadaşları mide kanseri olgularında, CD44, ALDH-1, Lgr5 ve Bmi immünekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında dört farklı kök hücre belirtecinin aynı hücrelerde birlikte eksprese olup olmadıklarını incelemek amacıyla çift immunhistokimyasal boyama tekniğini (*dual immunohistochemistry*) kullanmışlardır. CD44, ALDH-1 ve Lgr5 işaretçilerinin normal dokuların yanısıra kanser dokusunda eksprese olduklarını ve benzer dağılım gösterdiklerini gözlemlemişlerdir. Ancak, Lgr5 ile CD44 ve/veya ALDH-1 in aynı hücrede birlikte eksprese edilmediğini belirlemişlerdir²⁵⁵. Önceki çalışma-

larda^{186,257}, Lgr5 ve Bmi belirteçlerinin kök hücrelerde farklı fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiş olsa da, bu çalışmada Lgr5 ve Bmi'nin aynı hücrede eksprese olduğu saptanmıştır²⁸⁰ Simon ve arkadaşlarına ait çalışmada ise mide karsinomlarında, Lgr5' in CD44 ve Musashi-1 ile birlikte eksprese olduğu gösterilmiştir¹².

Biz çalışmamızda, immunhistokimyasal çift boyama tekniği uygulamasak da, kullandığımız üç farklı kök hücre belirteci olan CD44, ALDH-1 ve Lgr5'in birbirlerinden farklı yerleşimde hücre ve/veya hücre gruplarında eksprese olduklarını gözlemledik. Boyanma özelliklerinin ötesinde, bu üç belirtecin mide adenokarsinomlarındaki klinikopatolojik değişkenler ve sağkalım ile ilişkilerinde paralellik saptanmaması, bu belirteçlerin birbirlerinden farklı kök hücre ve/veya progenitör hücre gruplarını işaret edebileceğini düşündürmektedir.

Lgr5'in karsinogenez sürecindeki rolünü sorgulayan yakın zamanda yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Fan ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları çalışmada, Lgr5'in kolon karsinogenez sürecindeki rolünü değerlendirilmiştir. Lgr5'in normal kriptlerde, bazalde dağılık hücrede bulunduğu, adenomda ekspresyonunun artarak kript tabanından luminal yüzeye doğru dağılım gösterdiği, karsinomda ise dağılık ve yamasal eksprese olduğu gösterilmiştir. Karsinogenez sürecindeki bu dağılım farklılığının yanısıra, boyanma oranı adenomda % 28, karsinomda % 54 olarak tespit edilmiştir²⁷³. Becker ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı çalışmada normal kolon mukozası ve adenom alanlarında Lgr5 ekspresyonunu incelenmiş, normal mukozada kript tabanlarında görülen Lgr5 immunekspresyonunun, adenomda luminal yüzeye doğru kaydığı gösterilmiştir¹³.

Mide kanserlerinde Lgr5'in karsinogenez sürecindeki rolünü inceleyen, literatürde sadece iki tane çalışma bulunmaktadır. Zheng ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları çalışmalarında; normal mide dokusu, displazi, karsinom ve gastrik karsinom metastazı alanlarında Lgr5 ekspresyonunu incelemişlerdir. Normal mukozadan metastaza doğru artan Lgr5 ekspresyonu gözlemlenmiştir²⁷⁹. Simon ve arka-

daşları ise karsinogenez sürecinde, Lgr5 (+) hücrelerin dağılımını incelemişlerdir. Normal gastrik mukozada Lgr5 (+) hücrelerin bezlerin müköz boyun bölgesinde, intestinal metaplazide kripta tabanlarında, kanser dokusunda ise bu hücrelerin luminal yüzey, tümör merkezi ve invazyon alanlarında bulduklarını belirlemiştir. Ayrıca bu çalışmada mide dışında, özofagus, karaciğer, pankreas, kolon ve rektum karsinomlarında Lgr5 mRNA düzeylerinin, normal dokulara oranla anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir¹².

Çalışmamızda, literatürden farklı olarak tümör ve tümör çevresi dokularında Lgr5 immünekspresyonunun lokalizasyonu, dağılımı, boyanma şiddeti ve boyanma oranı birlikte değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında yer alan 153 gastrik adenokarsinom olgusunun 134 tanesinde tümör çevresi dokusu incelenmiştir. Tümör çevresinde 68 normal gastrik mukoza, 94 intestinal metaplazi ve 25 displazi alanında Lgr5 total skoru hesaplanmıştır. Benzer skorlama yöntemi intestinal tip adenokarsinom ve mikst tip adenokarsinomların intestinal komponentlerine de (n=115) uygulanmıştır.

Literatürdeki çalışmalara benzer şekilde, çalışmamızda Lgr5 ile, normal gastrik bazal mukozada dağınık, az sayıda hücrede izlenen zayıf boyanmanın intestinal metaplazide luminal yüzeye doğru kaydığı belirlenmiştir. Displazi odaklarında ise, displazi derecesinden bağımsız, bazalde veya yüzeyde Lgr5 immünekspresyonunun daha belirginleştiği saptanmıştır. Adenokarsinom alanlarında ise, tümör derece ve evresinden bağımsız olarak, özellikle luminal yüzeyde, yamasal, keskin sınırlı, kuvvetli sitoplazmik ve membranöz boyanma gözlenmiştir. Adenokarsinom olgularının bir kısmında tümörün ortalarında, serozal yüzeye yakın veya invazyon alanlarında; yamasal ve/veya diffüz boyanma izlenmiştir.

Normal mukoza, intestinal metaplazi, displazi ve karsinom alanlarındaki Lgr5 total skorlarının ortalamaları karşılaştırıldığı zaman literatürdeki diğer çalışmalara benzer şekilde, normalden displaziye doğru artış gözlemlenmiştir^{12,273,278,279}.

Bu farklılıkta, boyanma yüzdesindeki artışın yanısıra boyanma şiddeti de etkin olmuştur. Displazi ve karsinom alanlarında Lgr5 total skorları açısından farklılık saptanmamasına karşın, karsinom alanlarında boyanma şiddetinin belirgin şekilde artmış olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin, total skor hesaplama yönteminde Lgr5 lokalizasyon ve dağılımının, boyanma şiddeti ve oranı ile eş değerde dikkate alınmasının sonucu olduğu düşünülmüştür.

Jang ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları, yaklaşık 150 olguyu kapsayan gastrik adenom ve erken gastrik karsinomlardan oluşan çalışmada, Lgr5 immunekspresyonunun daha çok intestinal tip gastrik adenomlarda görüldüğü ve nükleer beta katenin pozitifliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu doğrultuda, Lgr5 in özellikle Wnt yolağı ile ilişkili karsinogenezin erken basamaklarında görevli olabileceğini öne sürülmüştür²⁷⁸. Wu ve arkadaşlarının aynı yıl yayınlanan çalışmalarında, Lgr5 ekspresyonunun tümör farklılaşma derecesindeki artış ile paralel artış gösterdiği İHK ve PCR ile gösterilmiştir²⁵⁵. Zheng ve arkadaşları, Lgr5 immunekspresyonunun gastrik karsinogenez sürecinde arttığını gösterdikleri gibi, Lgr5 in düşük evre tümörlerle ilişkili olduğunu bulmuşlar ve böylece Lgr5'in karsinogenezin erken bir belirteci olabileceğini söylemişlerdir²⁷⁹. Ayrıca literatürdeki çalışmalarda, Lgr5 ekspresyonunun iyi farklılaşma gösteren over ve kolon karsinomlarında, kötü farklılaşma gösteren karsinomlara oranla anlamlı derecede artmış olduğu gösterilmiştir²⁰⁹.

Çalışmamızda, literatürle uyumlu olarak, Lgr5 pozitifliğini karsinom olgularında düşük derece, erken duvar yayılımı (erken T) ve erken evre ile ilişkili bulunmamız, Lgr5'in gastrik adenokarsinomların erken aşamalarında rol alan bir süreci yansıtabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgularla birlikte, tümör çevresi gastrik mukozada karsinogenez sürecinde Lgr5 ekspresyonundaki artış göz önüne alındığı zaman; Lgr5 (+) kök hücre ve/veya progenitör hücrelerin özellikle intestinal tip morfolojideki gastrik kanserlerin öncül hücreleri olabileceği düşünülebilir.

Lgr5 immünespresyon bulgularının düşündüklerinin yanısıra, ALDH1 immünespresyonunun proksimal yerleşimli düşük dereceli gastrik adenokarsinomla ilişkisi gastrik karsinomların heterojen bir tümör grubu olduğunu desteklemektedir. Bu doğrultuda, ALDH1 (+) kök hücre/progenitör hücrelerin proksimal gastrik kanserlerin öncül hücreleri olabileceği savunulabilir.

Gastrik kanserlerde kök hücre teorisinin doğru olabileceğini düşündüren bu bulguların kesinleşmesi ve kök hücre teorisinin net olarak desteklenebilmesi için yapılacak geniş kapsamlı moleküler düzeyde çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

14. SONUÇLAR

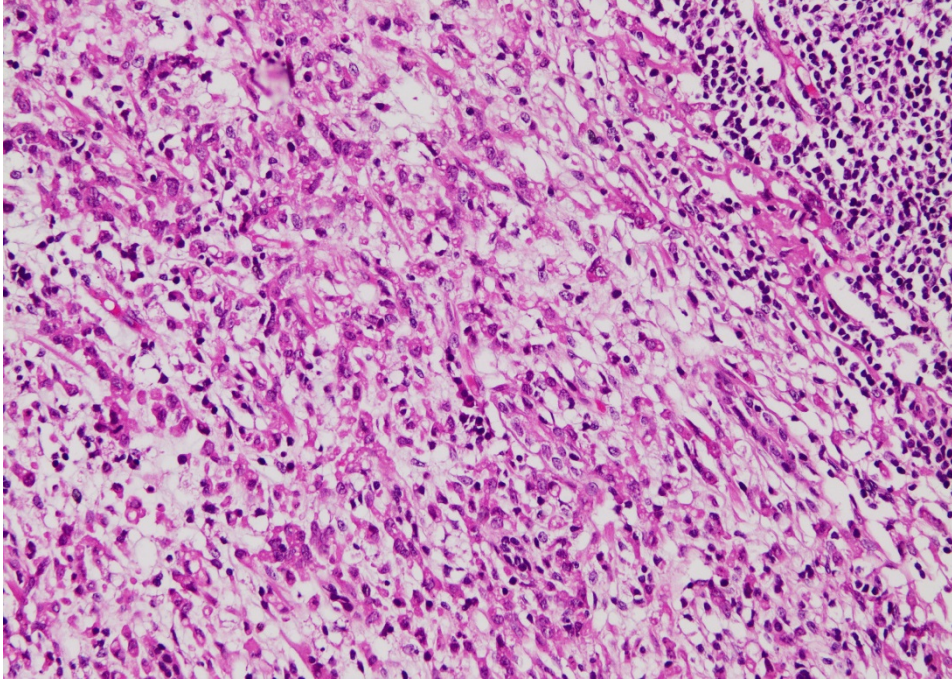
- Olgularımızın %24'ü diffüz, %66'sı intestinal ve %10'u mikst tiptir. Diffüz tipteki tümörlerin %86,8'i ileri duvar yayılımı, %52,6'sı perinöral invazyon göstermektedir. İntestinal tipteki tümörlerin %69'unda hafif-orta şiddette lenfositik yanıt vardır.
- Olgularımızın %40,5'i yüksek, %59,5'i düşük derecelidir. Yüksek dereceli olguların %88,7'si ileri duvar yayılımına, %58,1'i ileri lenf nodu tutulumuna ve %77,4'ü ileri evreye sahiptir. Yüksek dereceli olguların %61,3'ünde perinöral invazyon, %59,6'sında orta-şiddetli desmoplastik yanıt görülmektedir.
- Olgularımızın %37,9 erken, %62,1'i ileri evrededir. İleri evre olguların %90,5'i lenfatik invazyon, %58,9'u vasküler invazyon, %69,5'i perinöral invazyon ve %80,2'si perinodal yayılım göstermektedir. Şiddetli desmoplastik yanıt görülen olguların %70,4'ü ileri evreye sahiptir.
- İntestinal tip, düşük derece, erken duvar yayılımı ve erken evreye sahip olgularda artmış sağkalım saptanmıştır. Lenfovasküler invazyon, lenf nodu tutulumu ve şiddetli lenfositik yanıtta azalmış sağkalım tespit edilmiştir.
- Olgularımızın %37,3'ü CD44(-), %62,7'si CD44(+)'tir İntestinal morfolojiye sahip olgular arasında CD44 pozitifliğinin yaygın olduğu saptanmıştır.
- CD44 pozitifliği, ileri duvar yayılımı (ileri T), lenfovasküler invazyon ve belirgin desmoplastik yanıt ile istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur.
- CD44 pozitifliği ile sağkalım arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır. Ancak takip süresi arttıkça CD44(+) olgular azalmış sağkalım eğilimi göstermiştir.
- CD44 ekspresyonunun, lenfovasküler invazyon ve ileri duvar yayılımı gibi kötü prognostik değişkenlerle ilişkisi, ve azalmış sağkalım eğilimi göstermesi bu belirtecin işaret ettiği hücrelerin, doku kök hücrelerinden çok, kanser kök hücre özelliklerine sahip olabileceğini düşündürmüştür.

- Olgularımızın %18,3'ü ALDH-1(-), %81,7'si ALDH1(+)'tir. Proksimal yerleşimli 26 olgunun 25 tanesi ALDH-1 pozitifdir. ALDH-1 (+)'liği düşük derece ve perinodal yayılım ile istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur. ALDH-1 pozitifliği ile sağkalım arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır.
- ALDH-1'in proksimal yerleşimli tümörlerin neredeyse tamamını boyaması, bu işaretçinin proksimal lokalizasyonlu ayrı bir kanser kök hücre popülasyonunu temsil ediyor olabileceğini düşündürmüştür.
- Olgularımızın %32,7'si Lgr5(-), %67,3'ü Lgr5(+)'tir. Lgr5 pozitifliği düşük derece, erken duvar yayılımı ve erken evre ile istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur.
- Lgr5 ekspresyonunun artmış sağkalım ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi vardır. Lüminal Lgr5 boyanması görülen olgularda, sağkalımda belirgin artış saptanmıştır.
- Karsinogenez sürecinde Lgr5 boyanma şiddetinin giderek artışı, pozitif boyanan hücrelerin bazalde lüminal yüzeye doğru yer değiştirmesi ve kanser dokularındaki immünekspresyonun özellikle düşük derece, düşük evreye sahip olgularda görülmesi ve artmış sağkalımla ilişkisi göz önüne alındığında, Lgr5 (+) hücrelerin özellikle intestinal morfolojideki gastrik kanserlerin içinde yer alan kök hücre ve/veya progenitör hücreler olabileceğini düşündürmüştür.

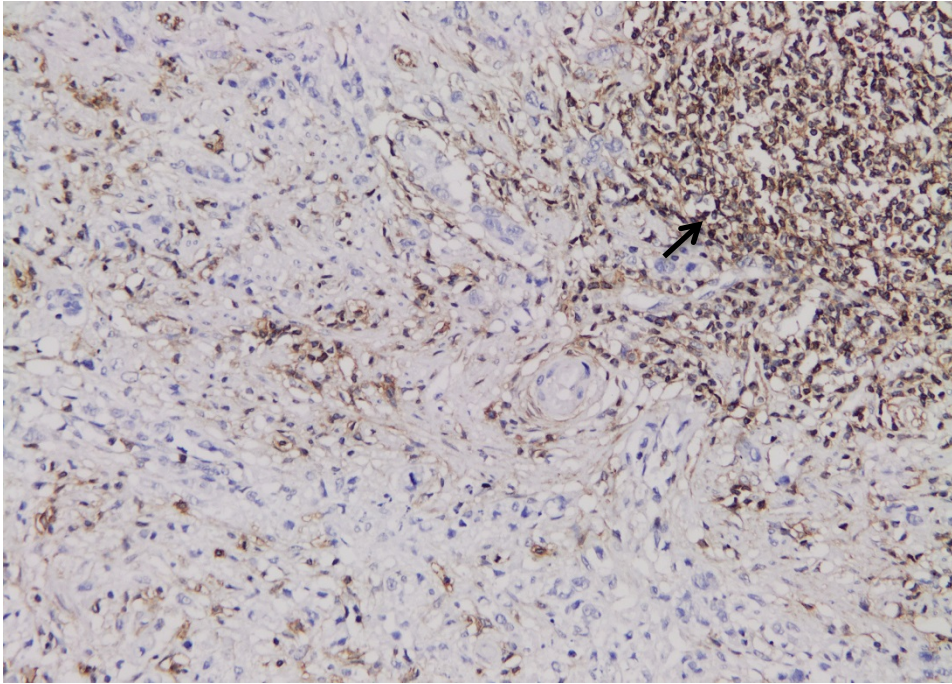
15. RESİMLER

15.1. İHK Belirteçleri

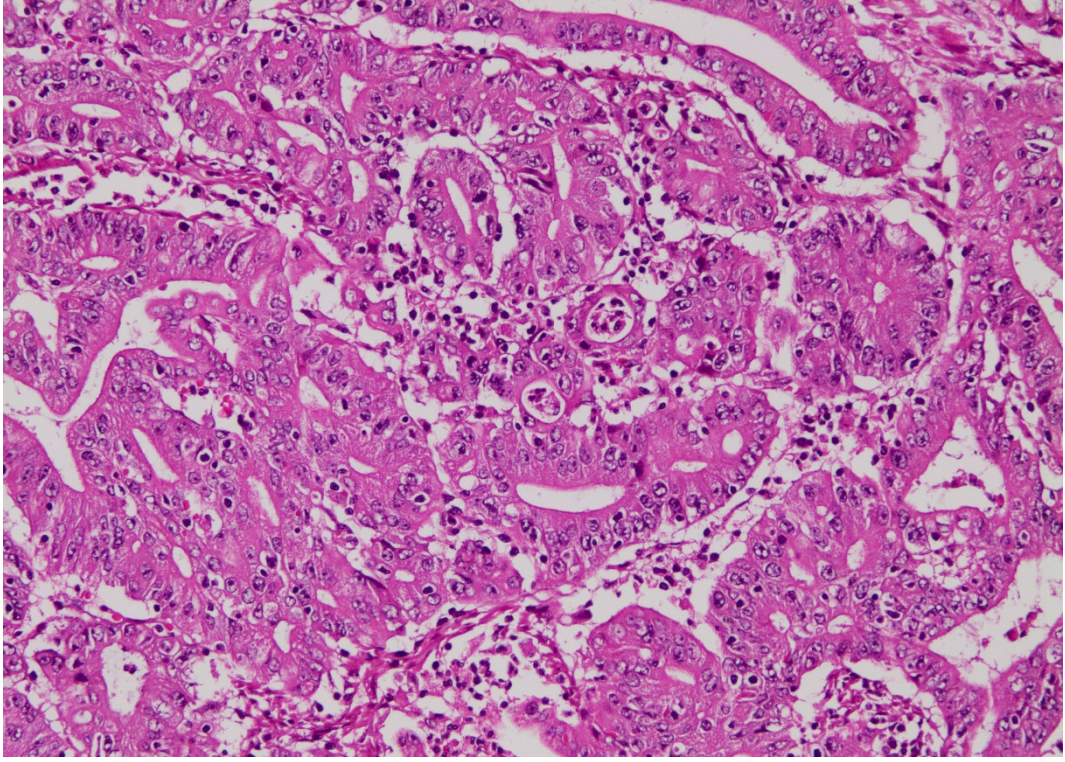
15.1.1. CD44



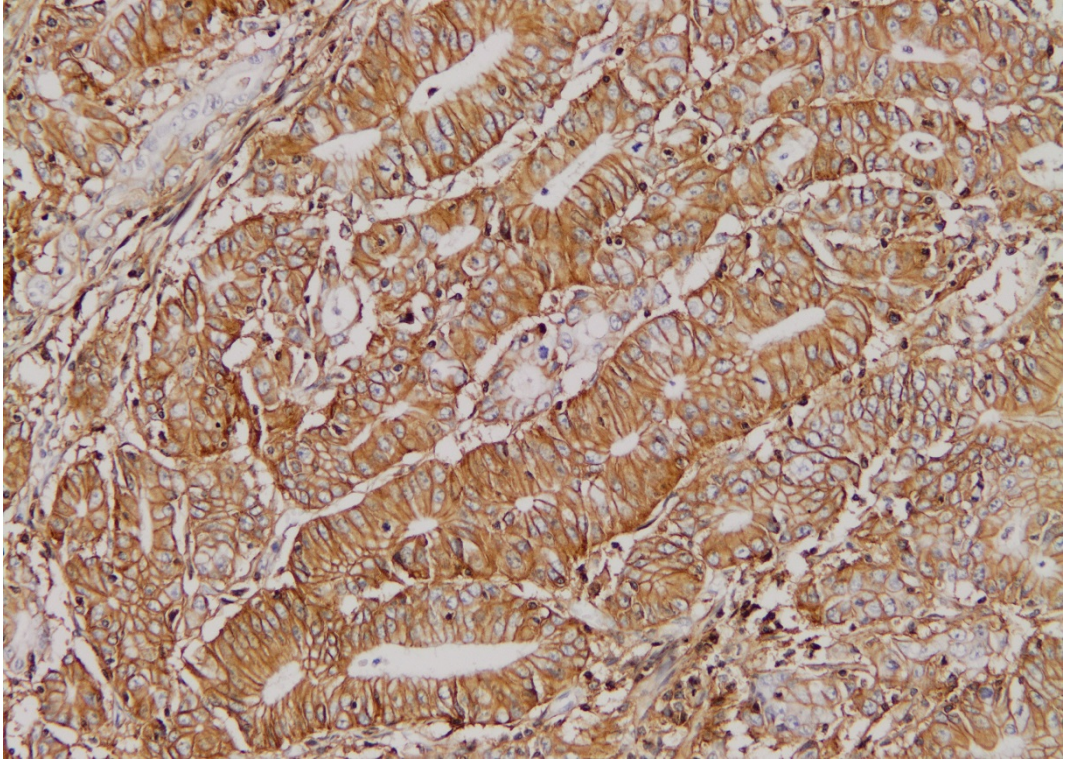
Şekil 61. Diffüz tip adenokarsinom (H&E, ×20)



Şekil 62. Diffüz tip adenokarsinomda negatif CD44 boyanması (İHK, ×20)
Ok: İnternal kontrol, lenfositler

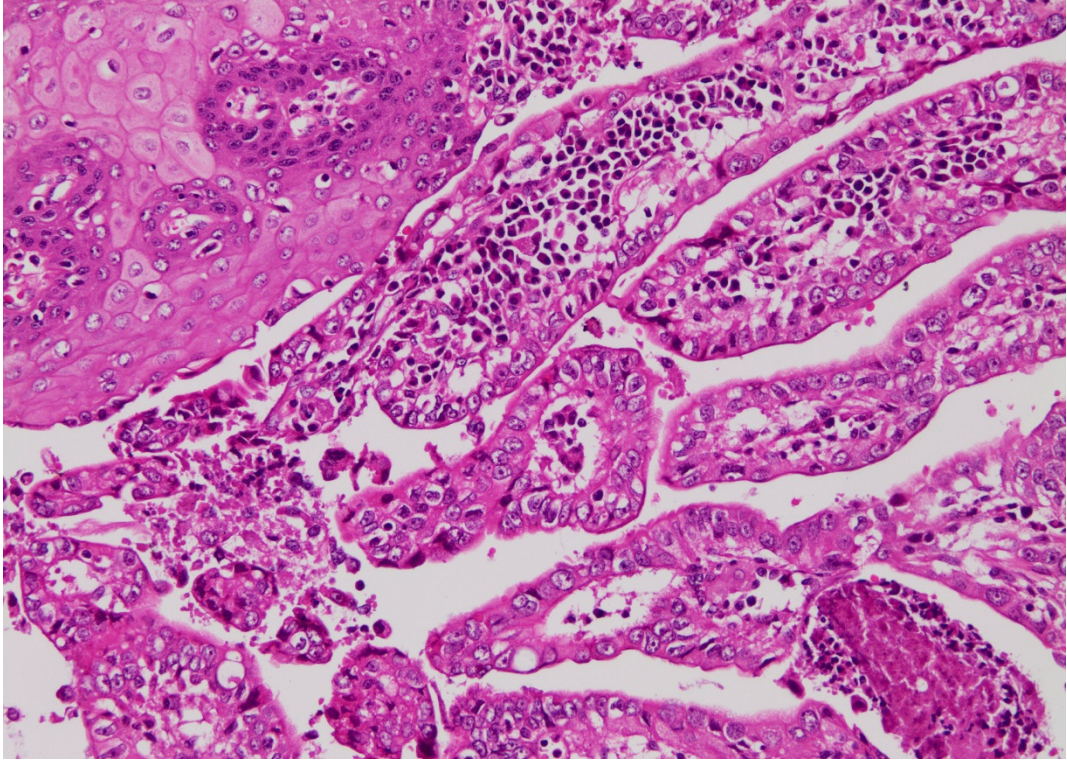


Şekil 63. İntestinal tip adenokarsinom (H&E, x20)

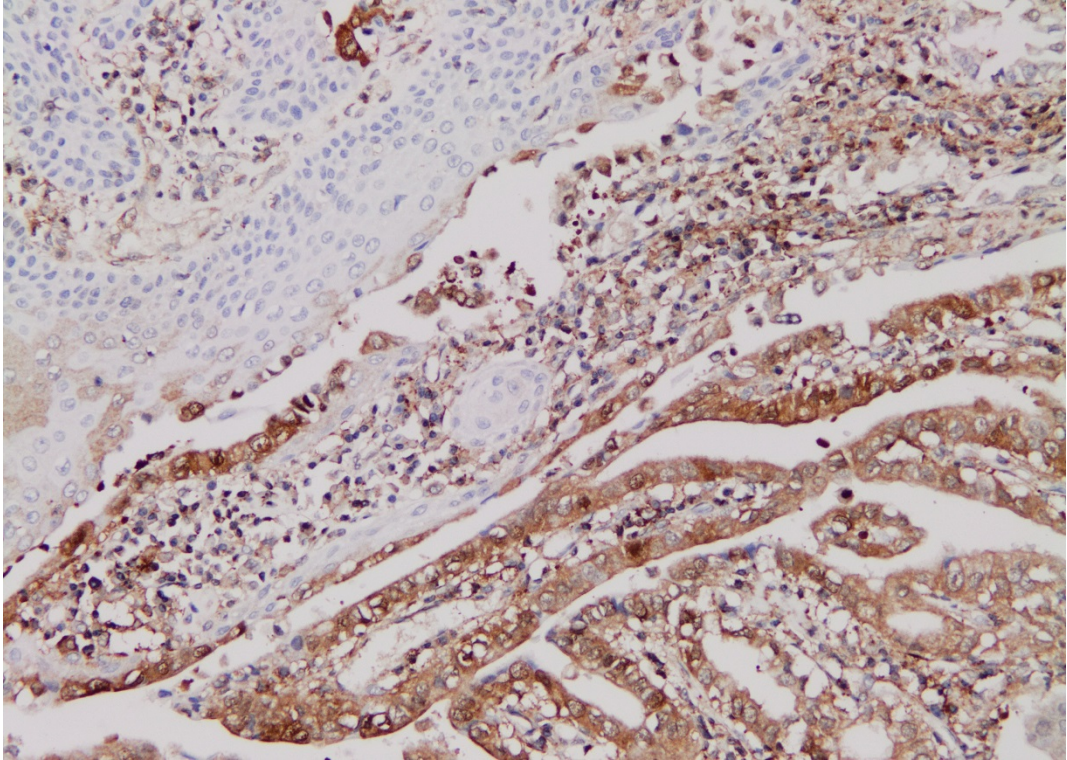


Şekil 64. İntestinal tip adenokarsinomda kuvvetli membranöz CD44 boyanması (İHK, x20)

15.1.2. ALDH-1

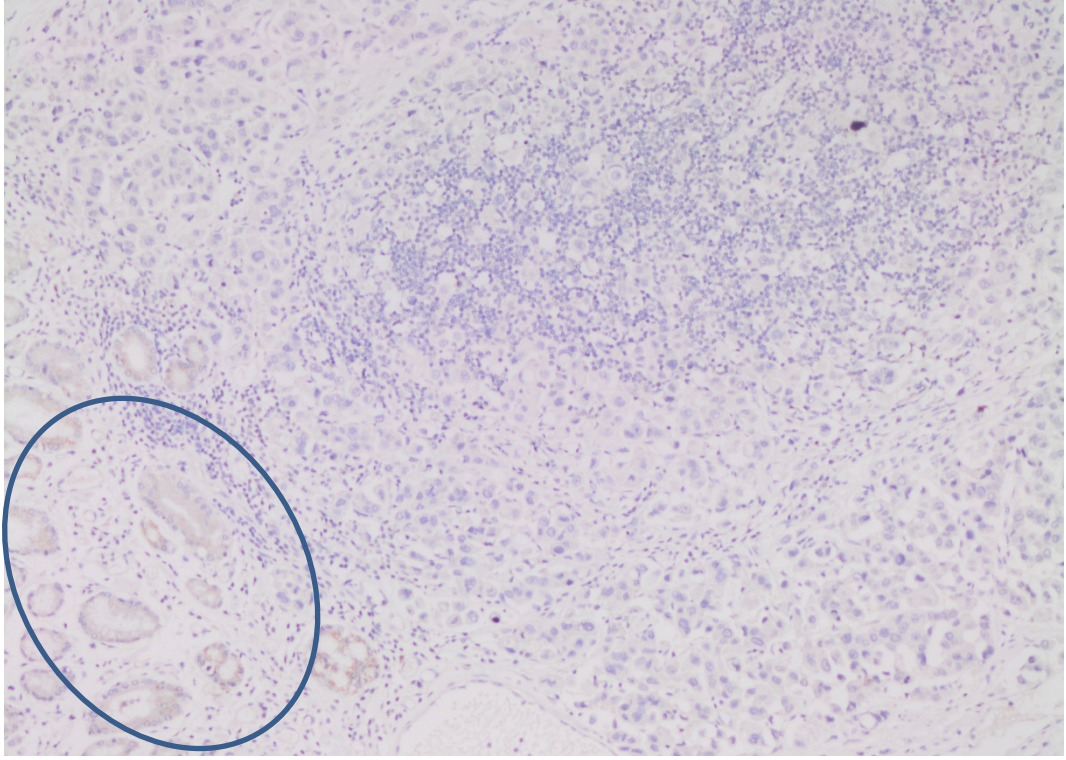


Şekil 65. Proksimal yerleşimli intestinal tip adenokarsinom (H&E, ×20).
Ok: Skuamöz epitel (gastroözofagiyal bileşke).

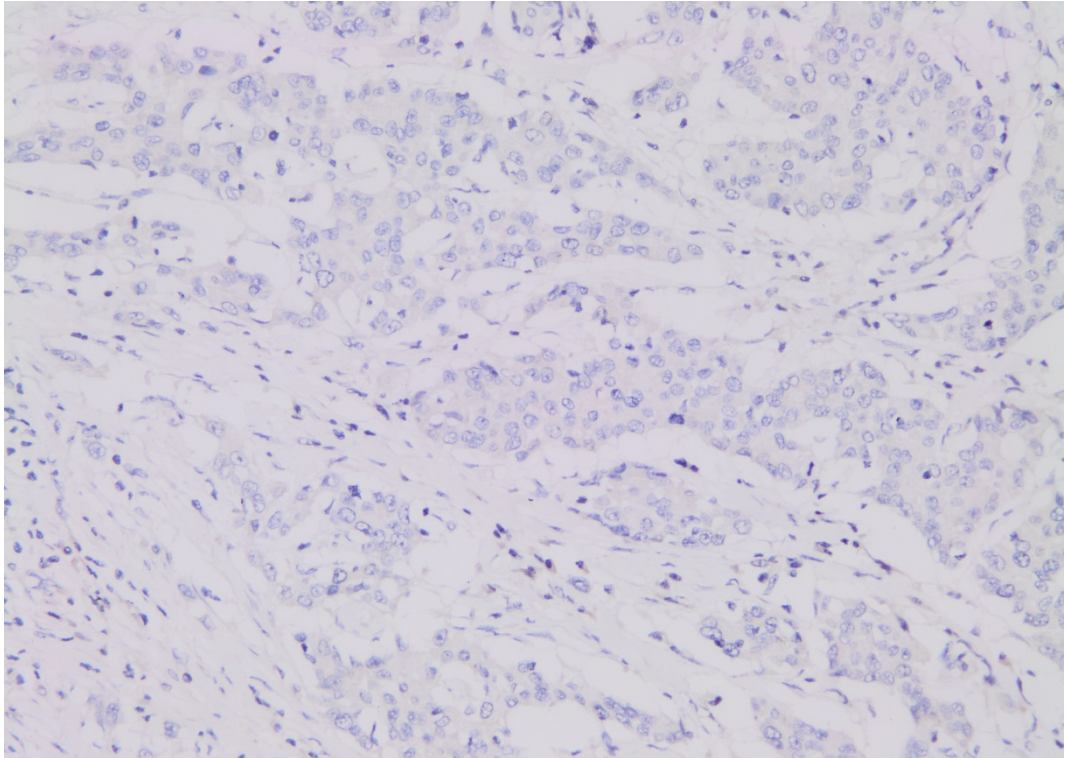


Şekil 66. Proksimal yerleşimli intestinal tip adenokarsinomda, orta şiddette sitoplazmik ALDH-1 boyanması (İHK, ×20).

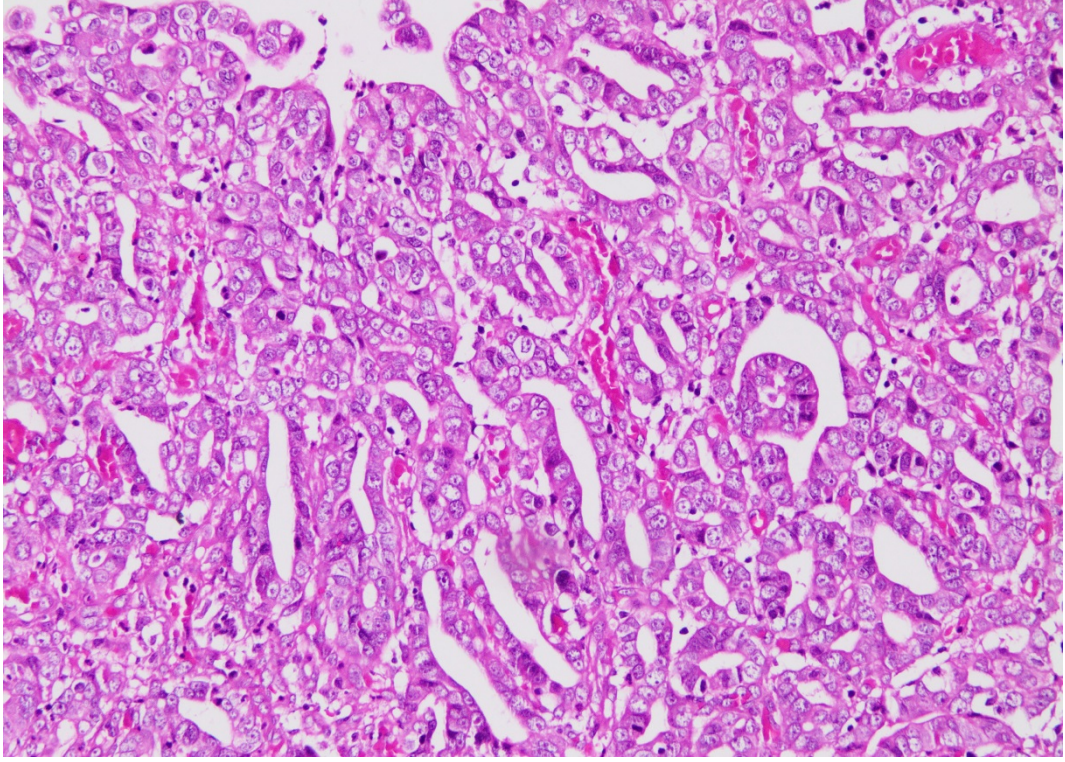
15.1.3. Lgr5



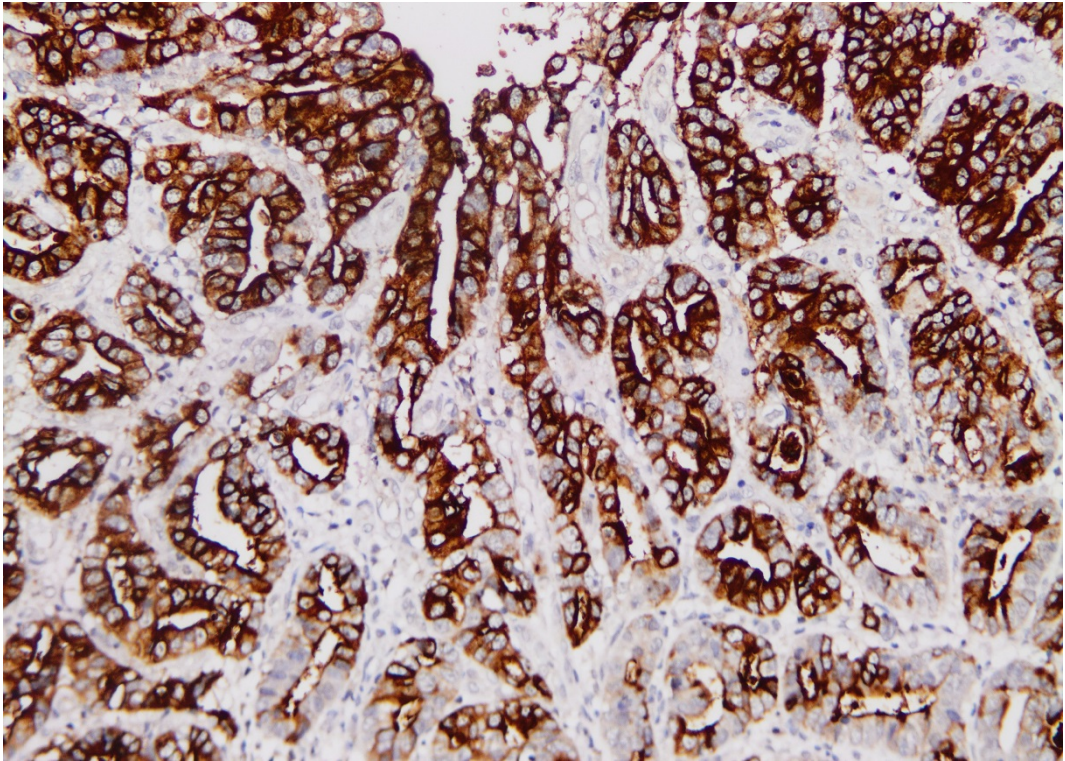
Şekil 67. Yüksek dereceli adenokarsinomda, negatif Lgr5 boyanması (İHK, ×10).
Halka: Arada kalmış intakt mukozada, kript tabanlarında Lgr5 pozitif hücreler



Şekil 68. Yüksek dereceli adenokarsinomda, negatif Lgr5 boyanması (İHK, ×20).



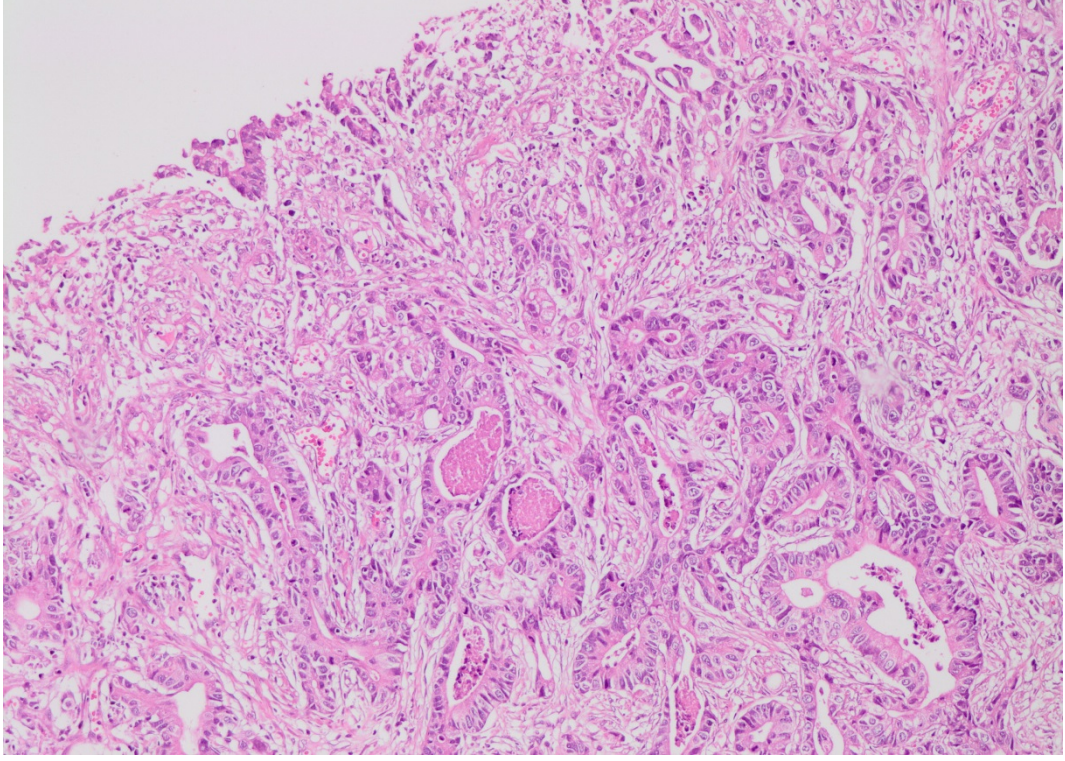
Şekil 69. Düşük dereceli intestinal tip adenokarsinom (H&E, x20).



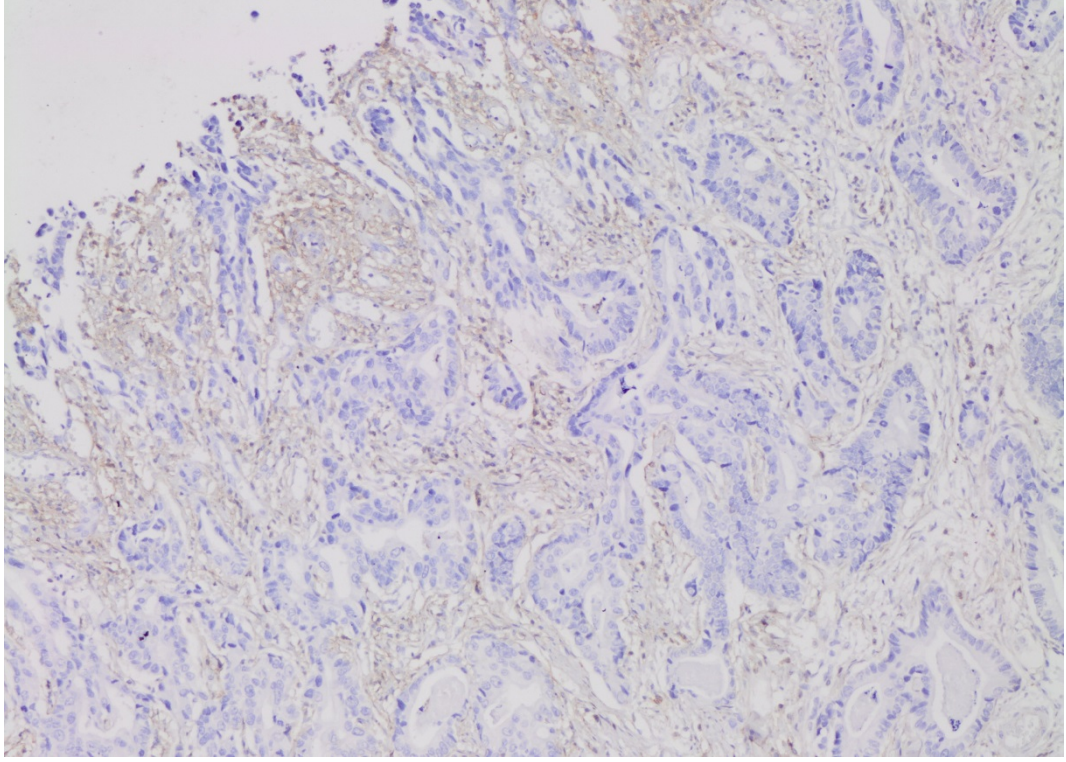
Şekil 70. Düşük dereceli intestinal tip adenokarsinomda, kuvvetli sitoplazmik/membranöz Lgr5 boyanması (İHK, x20).

15.2. İHK Belirteçlerinin Karşılaştırılması

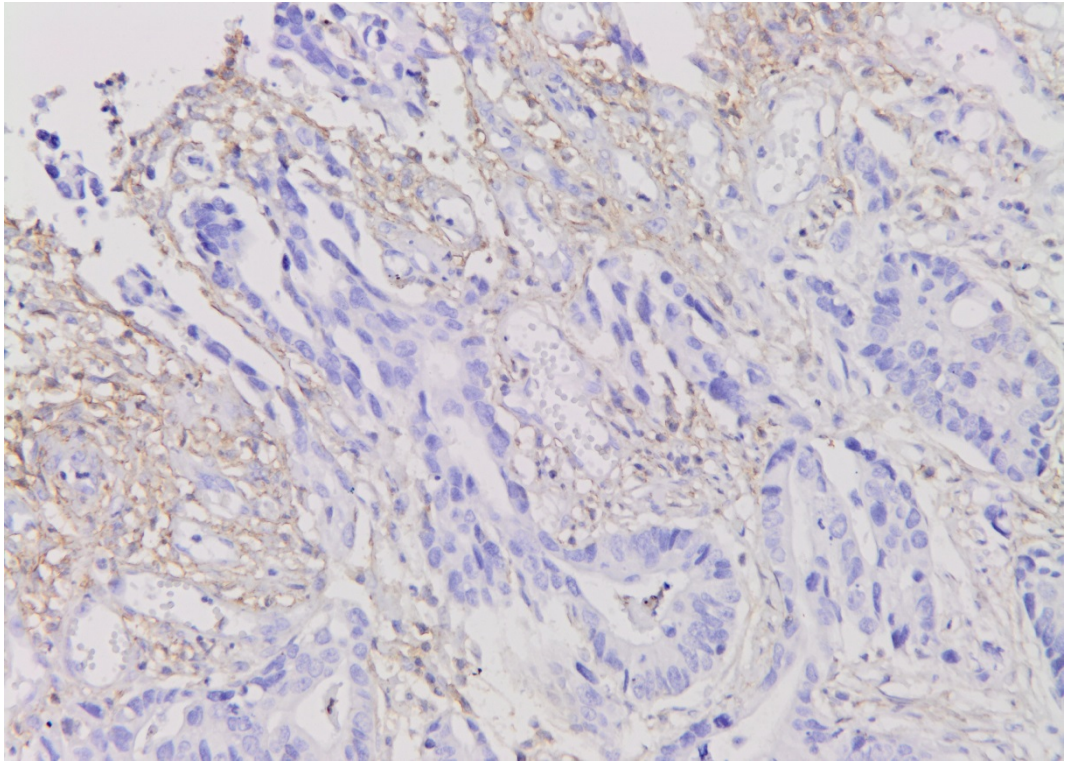
15.2.1. Olgu 1



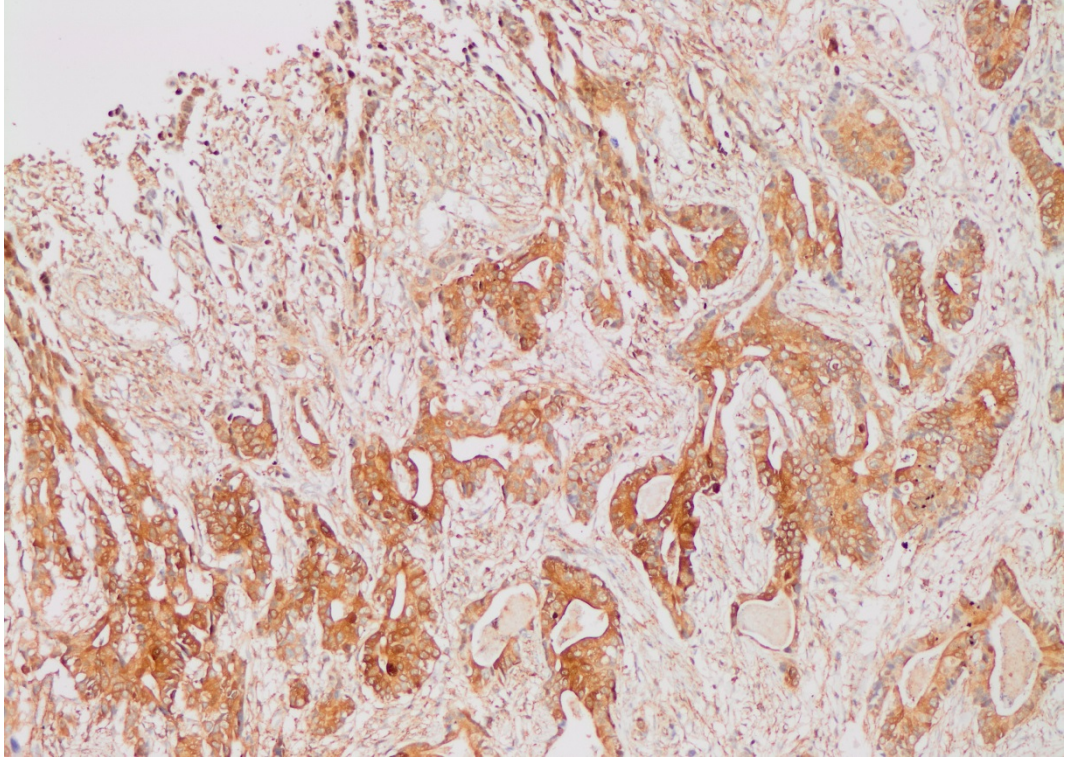
Şekil 71. İntestinal tip adenokarsinom (H&E, ×10).



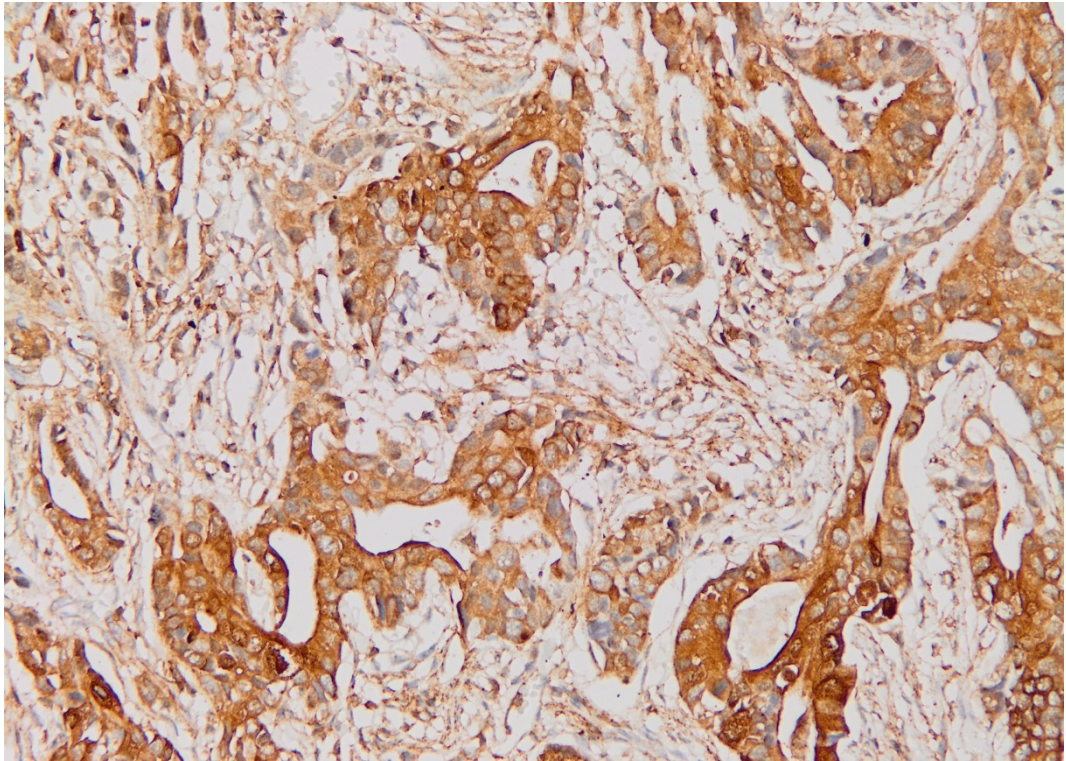
Şekil 72. CD44 ile negatif boyanma (İHK, ×10).



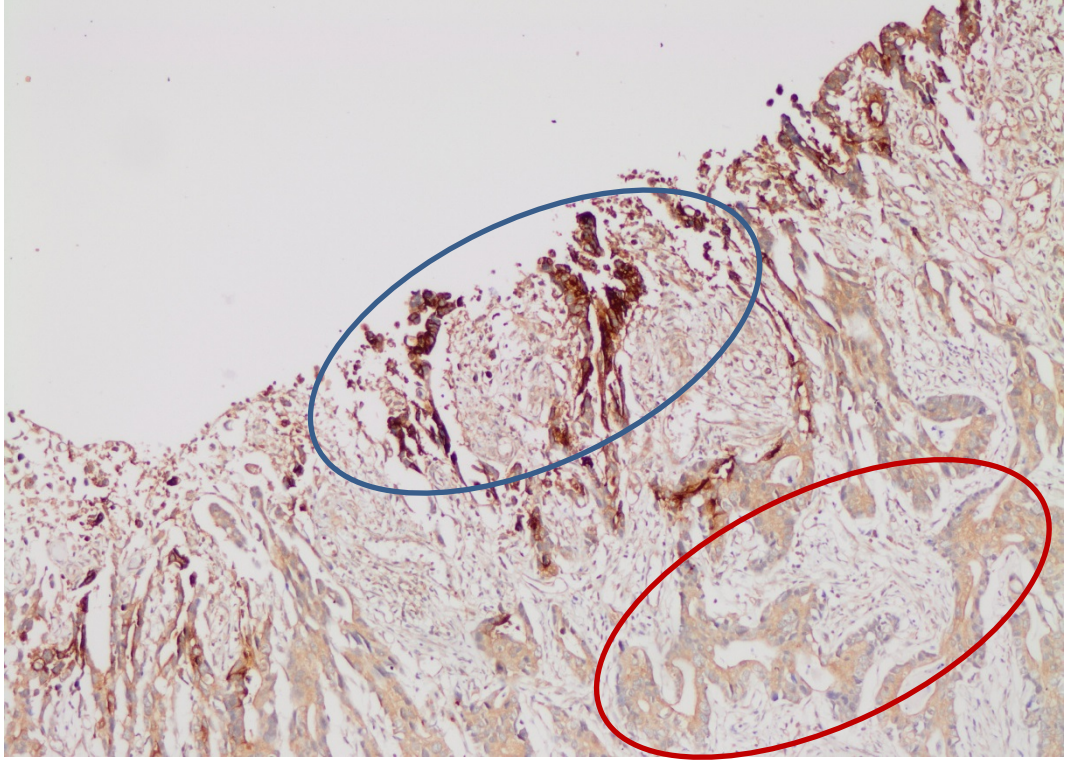
Şekil 73. CD44 ile negatif boyanma (İHK, ×20).



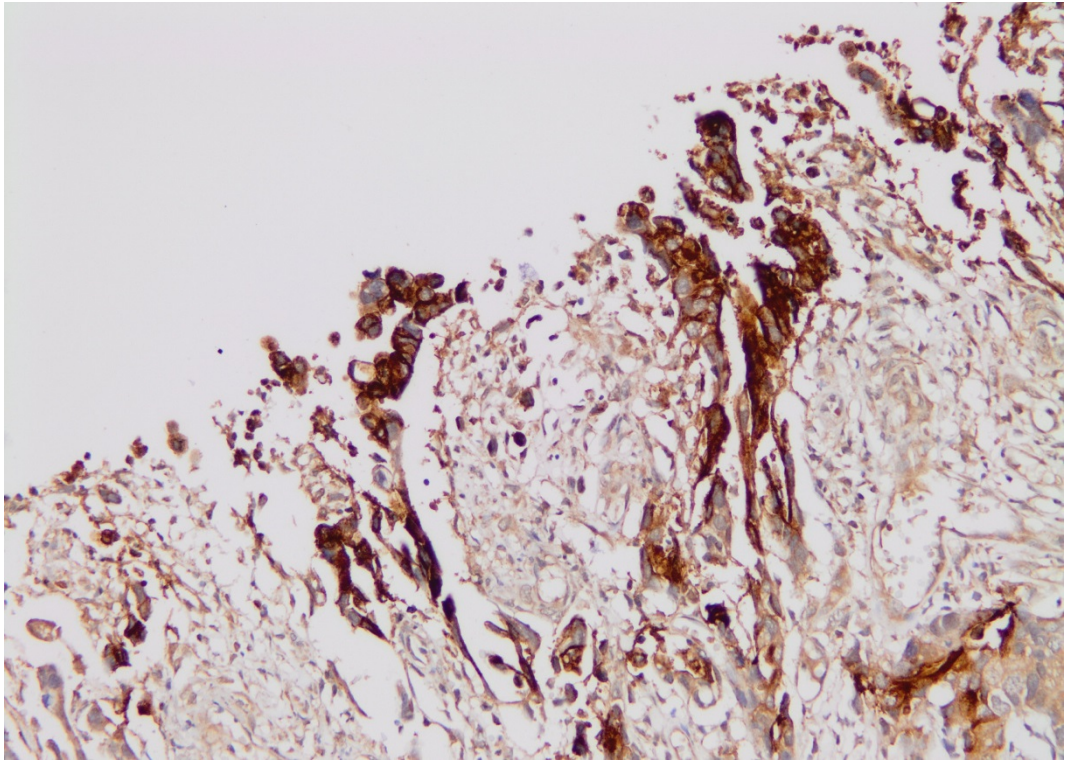
Şekil 74. ALDH-1 ile orta şiddette sitoplazmik boyanma (İHK, ×10).



Şekil 75. ALDH-1 ile orta şiddette sitoplazmik boyanma (İHK, ×20)

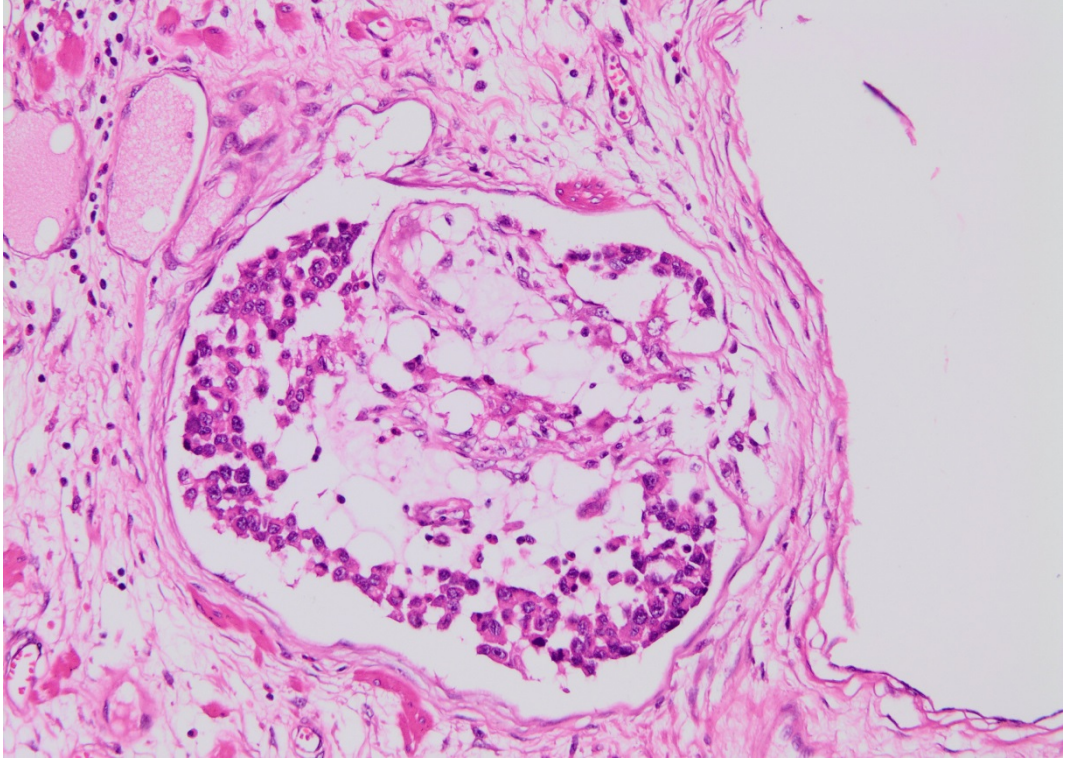


Şekil 76. Lgr5 ile kuvvetli lüminal sitoplazmik/membranöz boyanma (İHK, ×10).
Mavi halka: Tümörde lüminalpozitif boyanma.
Kırmızı halka: Tümörde lüminal dışı negatif boyanma.

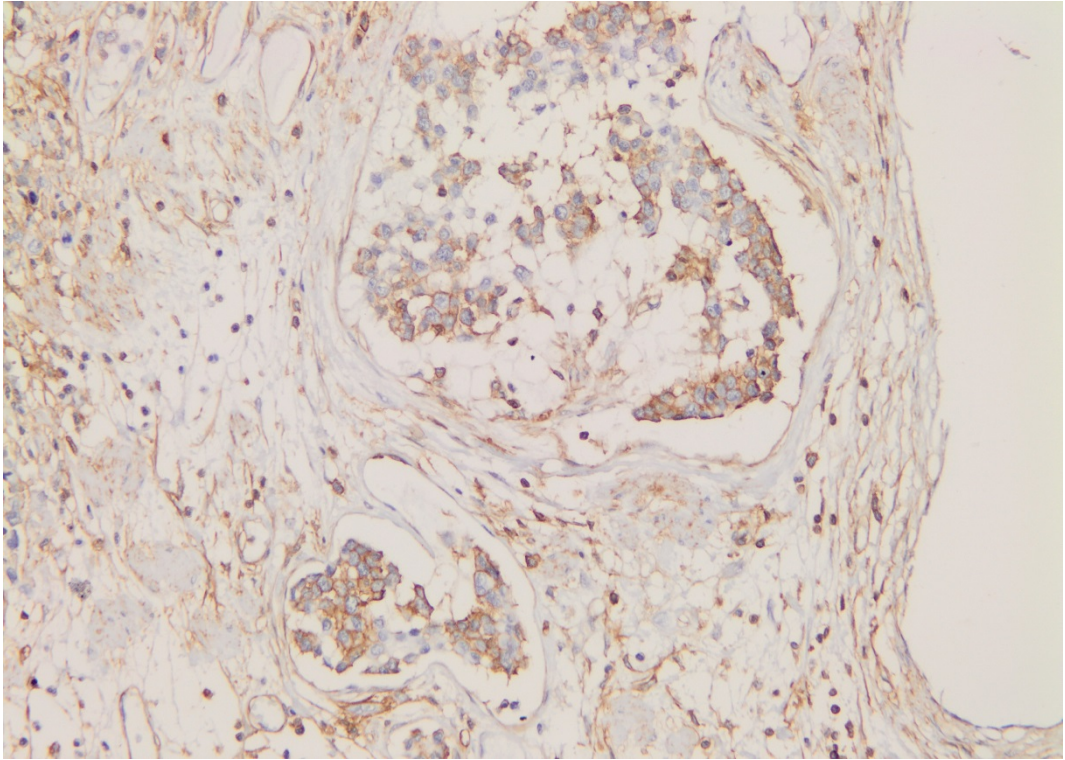


Şekil 77. Lgr5 ile kuvvetli lüminal sitoplazmik/membranöz boyanma (İHK, ×20).

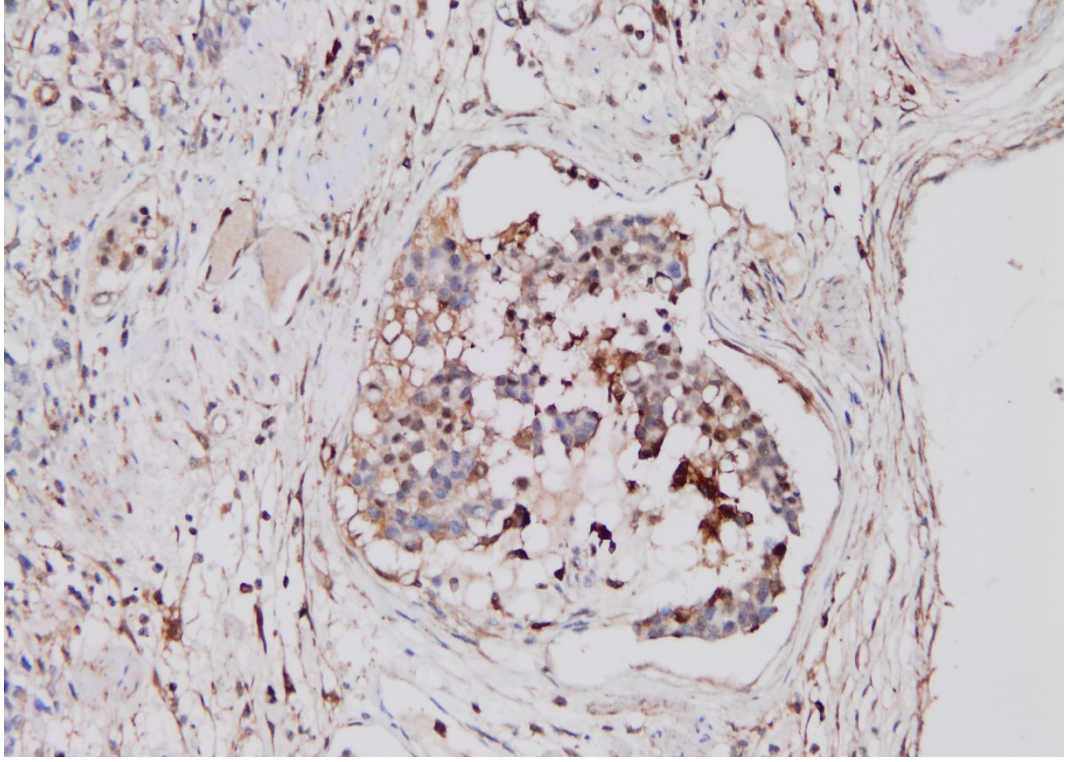
15.2.2. Olgu 2



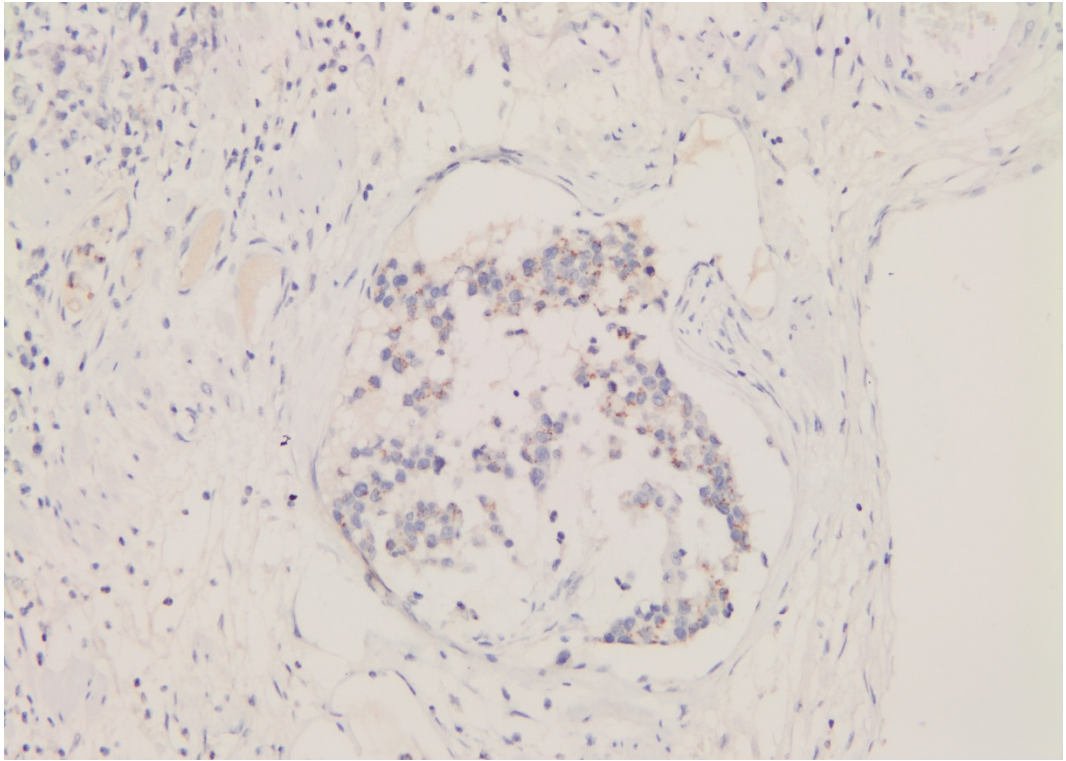
Şekil 78. Diffüz tipte adenokarsinom (lenfatik içinde) (H&E, ×20).



Şekil 79. CD44 ile orta şiddette membranöz boyanma (İHK, ×20).

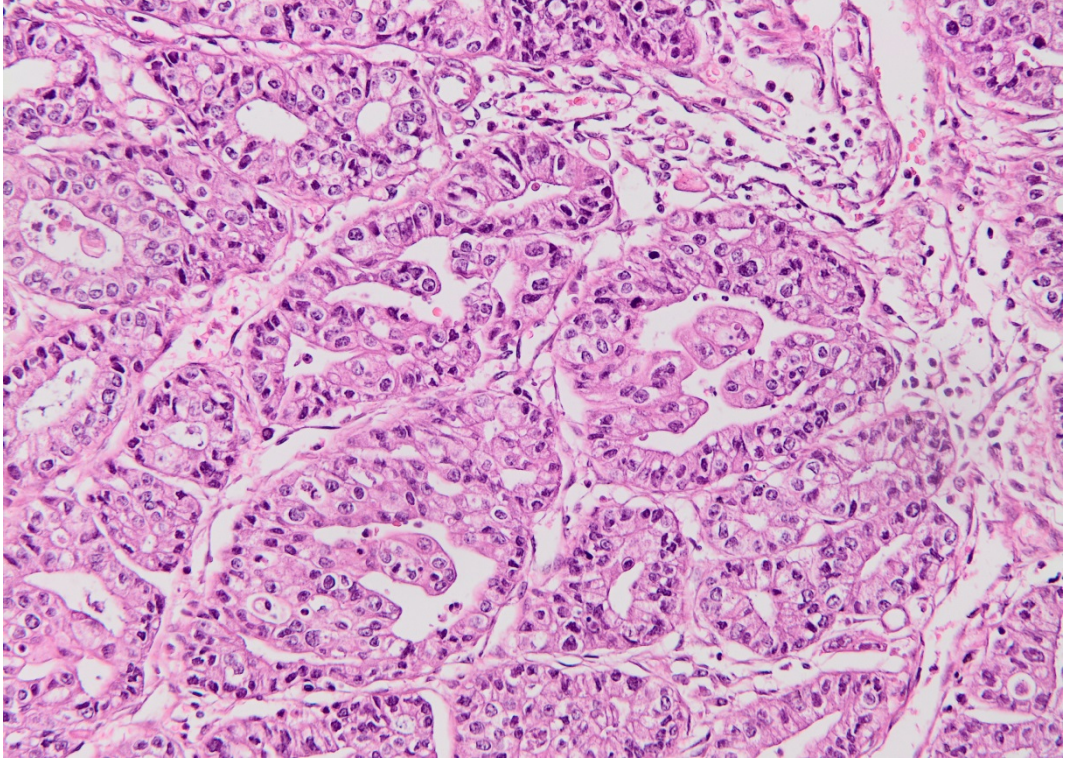


Şekil 80. ALDH-1 ile orta şiddette sitoplazmik boyanma (İHK, ×20).

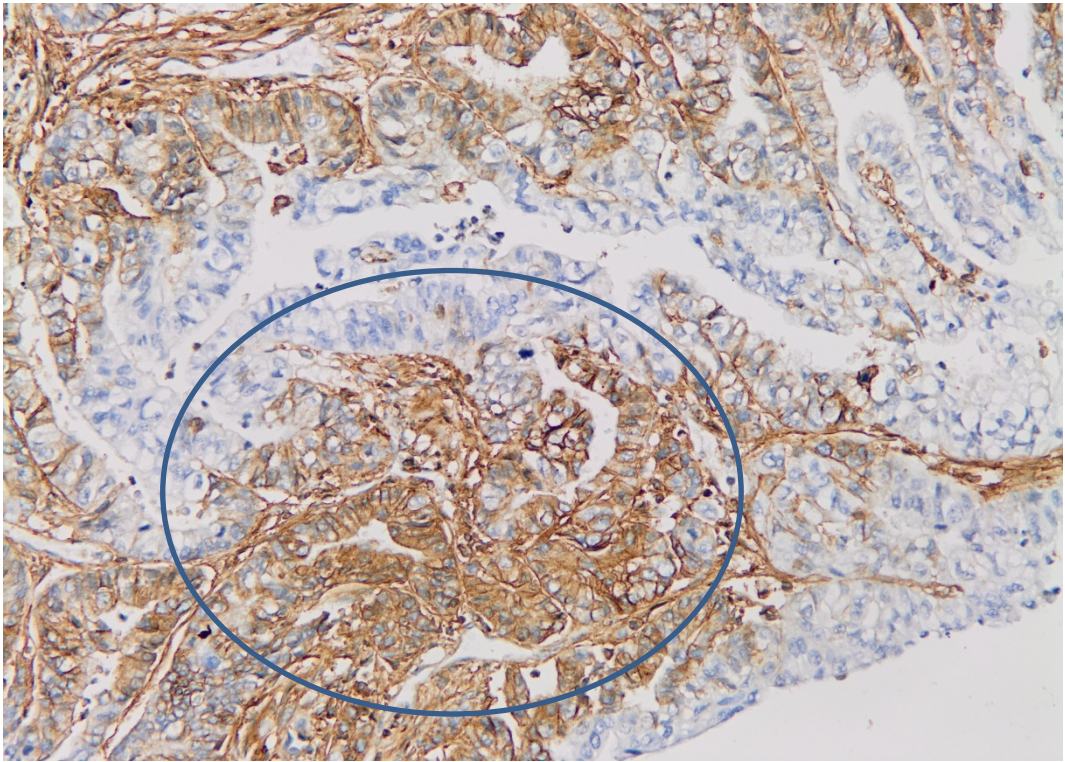


Şekil 81. Lgr5 ile hafif şiddette granüler boyanma (İHK, ×20).

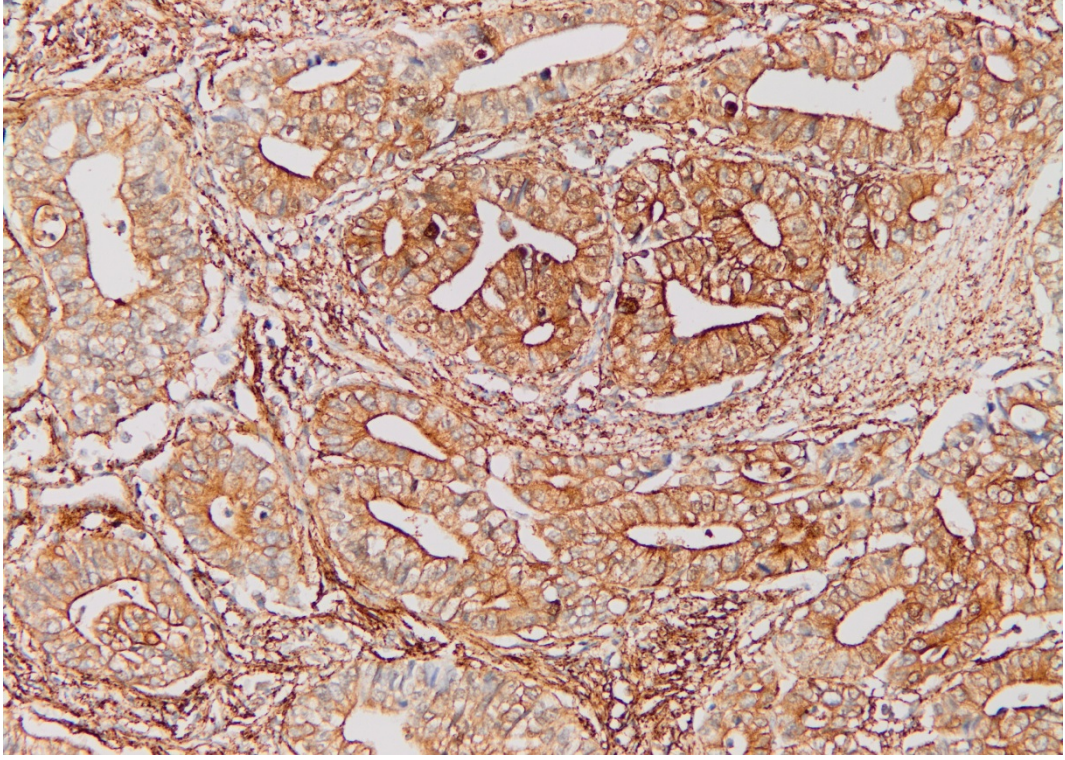
15.2.3. Olgu 3



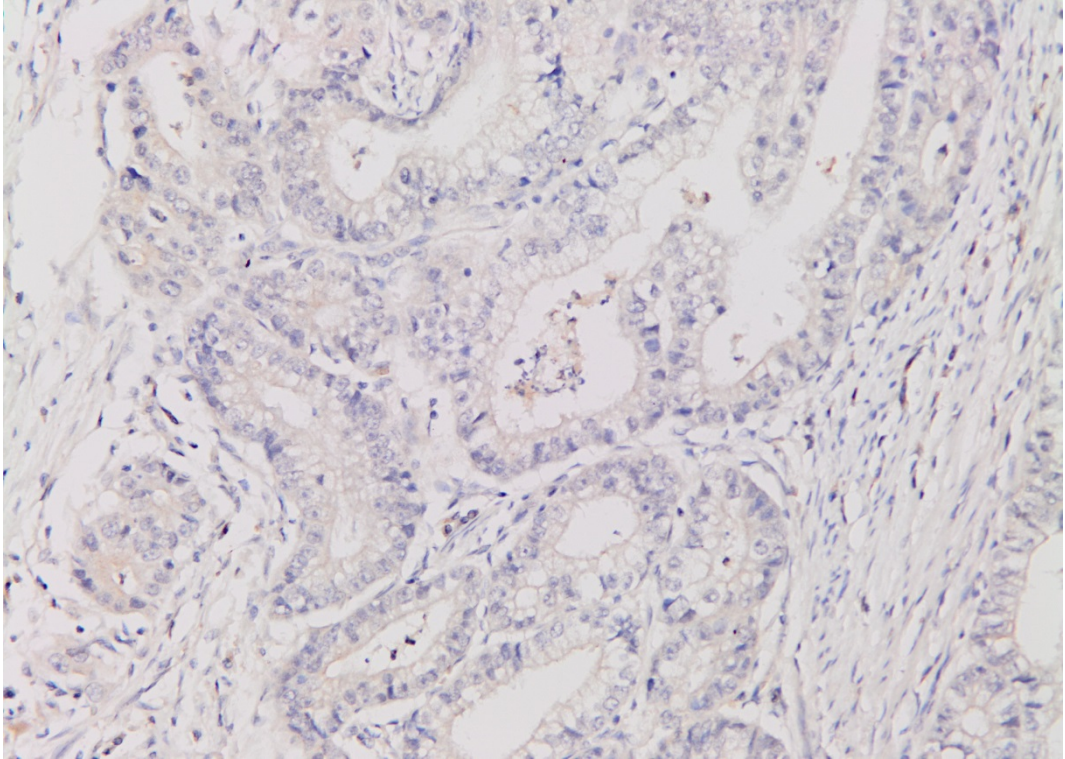
Şekil 82. İntestinal tip adenokarsinom (H&E, ×20).



Şekil 83. CD44 ile yamasal kuvvetli membranöz boyanma (İHK, ×20).
Halka: Pozitif boyanma

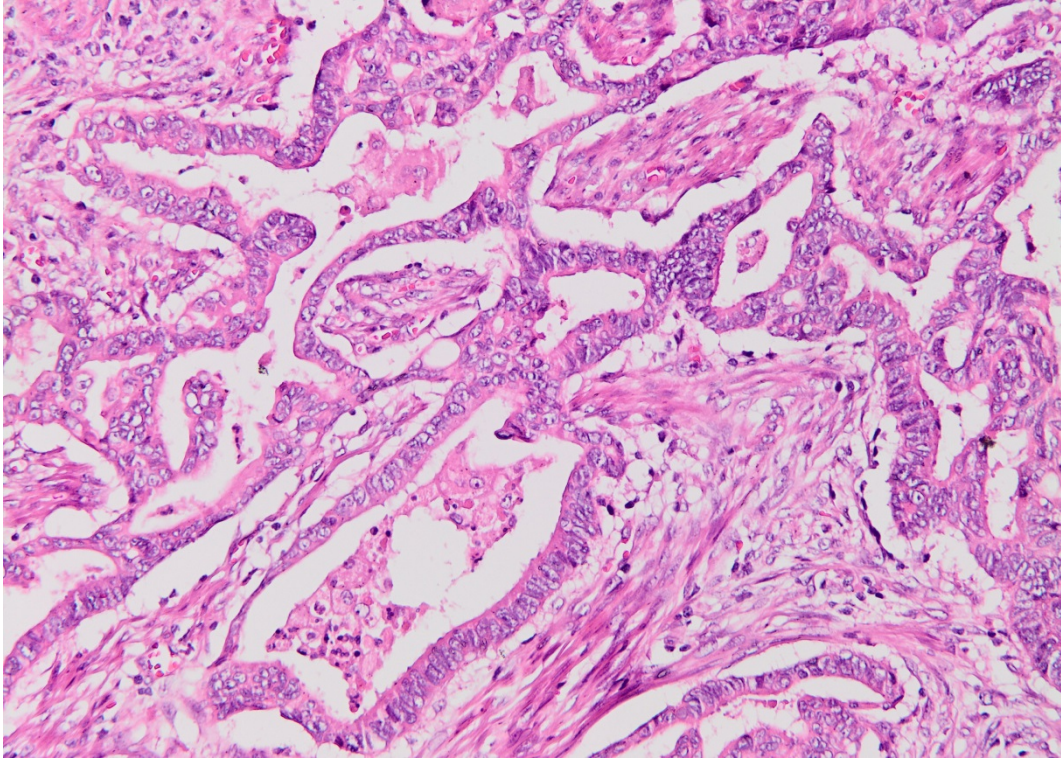


Şekil 84. ALDH-1 ile diffüz, orta şiddette sitoplazmik boyanma (İHK, ×20).

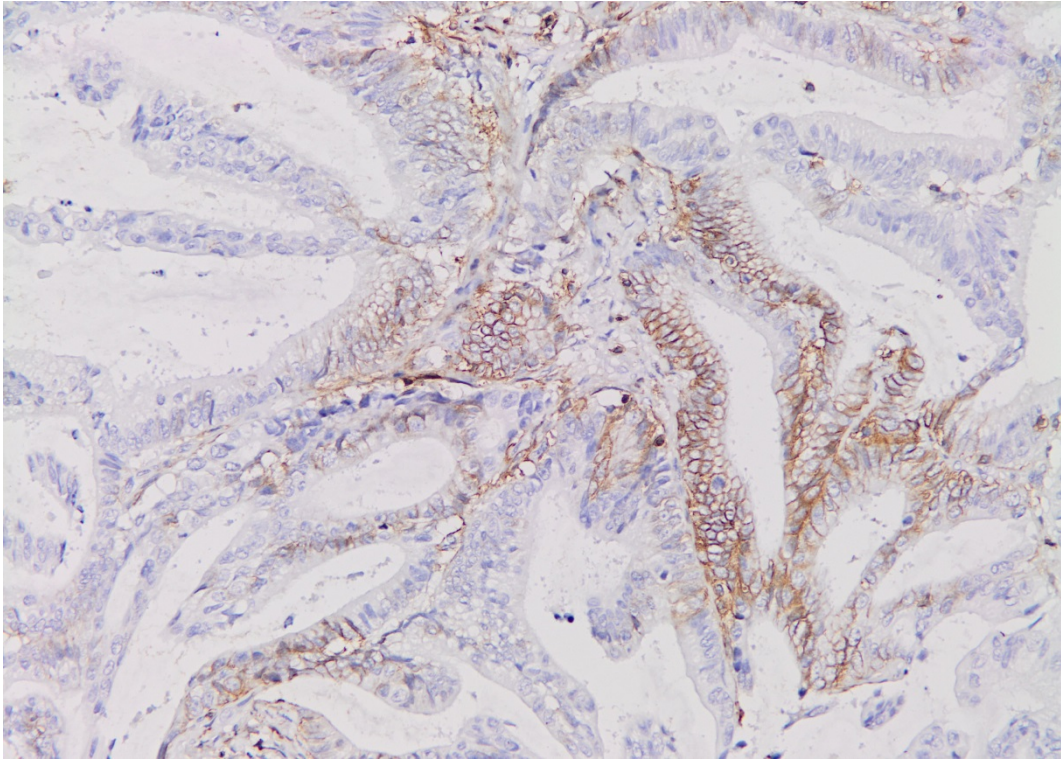


Şekil 85. Lgr5 ile negatif boyanma (İHK, ×20).

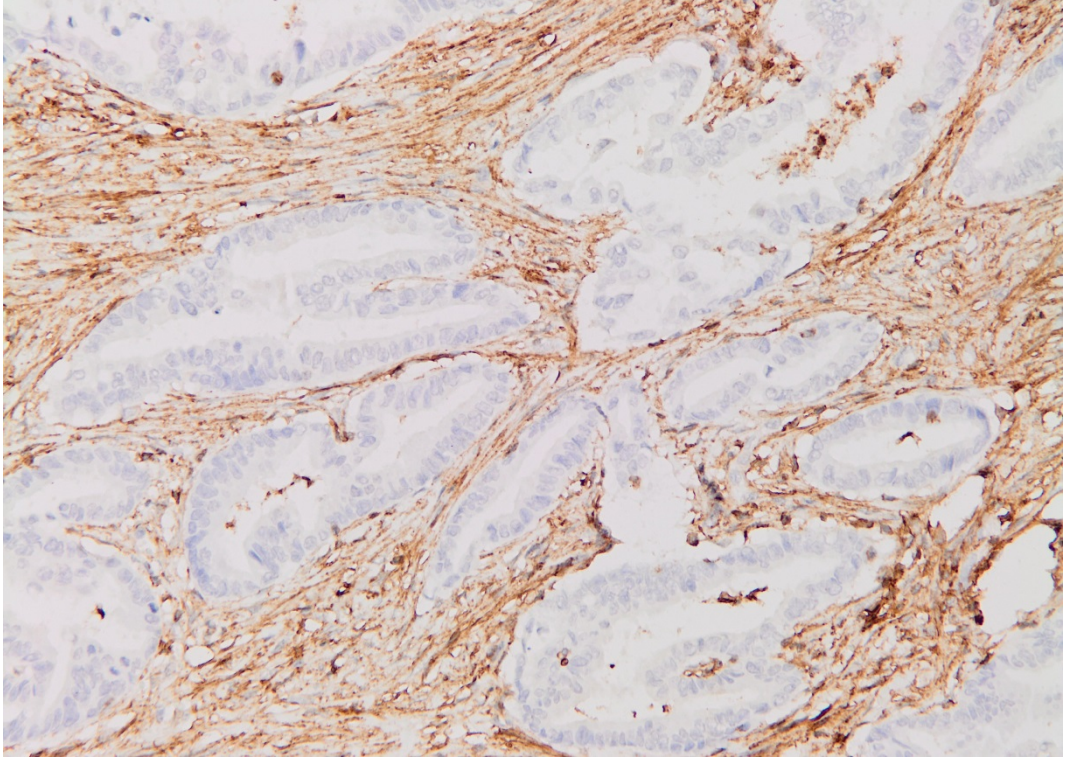
15.2.4. Olgu 4



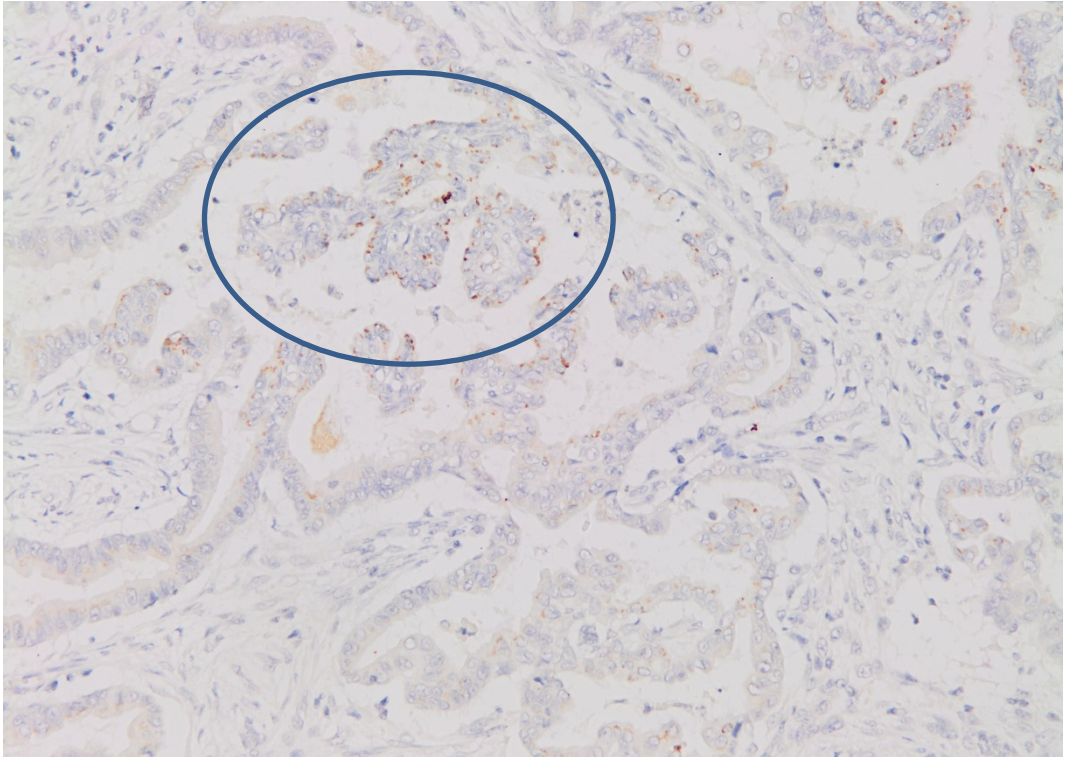
Şekil 86. İntestinal tip adenokarsinom (H&E, x20)



Şekil 87. CD44 ile fokal, orta şiddette membranöz boyanma (İHK, x20)



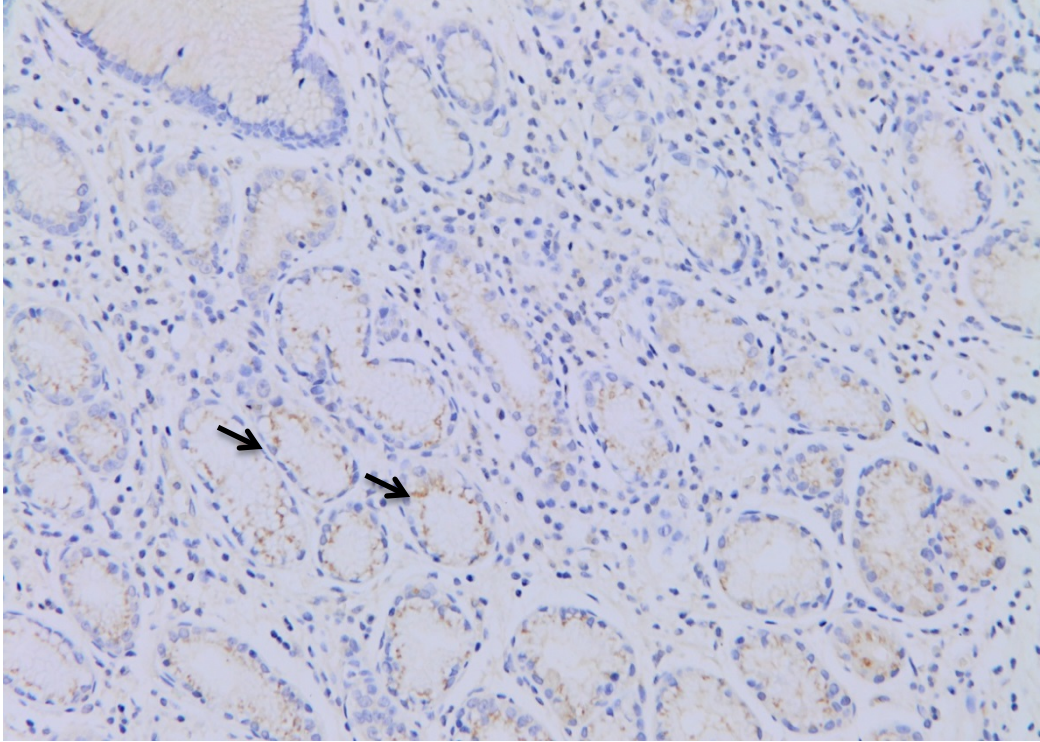
Şekil 88. ALDH-1 ile negatif boyanma (İHK, ×20)



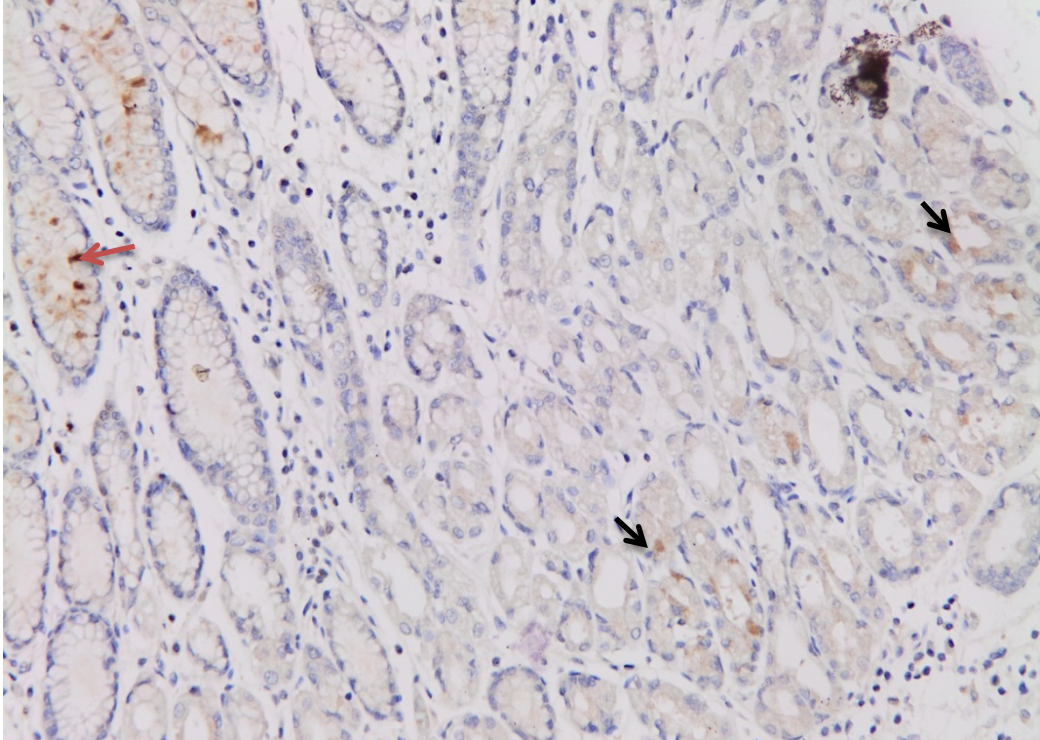
Şekil 89. Lgr5 ile fokal, hafif şiddette granüler boyanma (İHK, ×20)

15.3. Lgr5 – Karsinogenez

15.3.1. Olgu 5

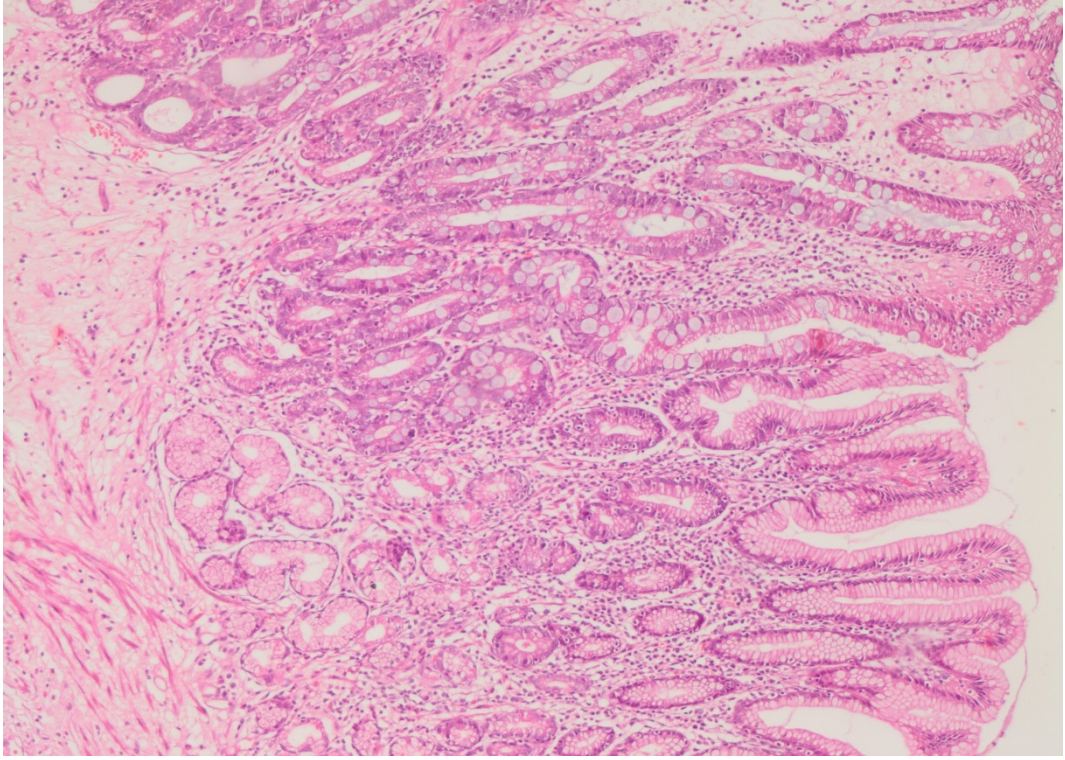


Şekil 90. Antral mukozada, kript tabanlarında, hafif şiddette Lgr5 boyanması (İHK, ×20)
Oklar: Lgr5 pozitif hücreler.

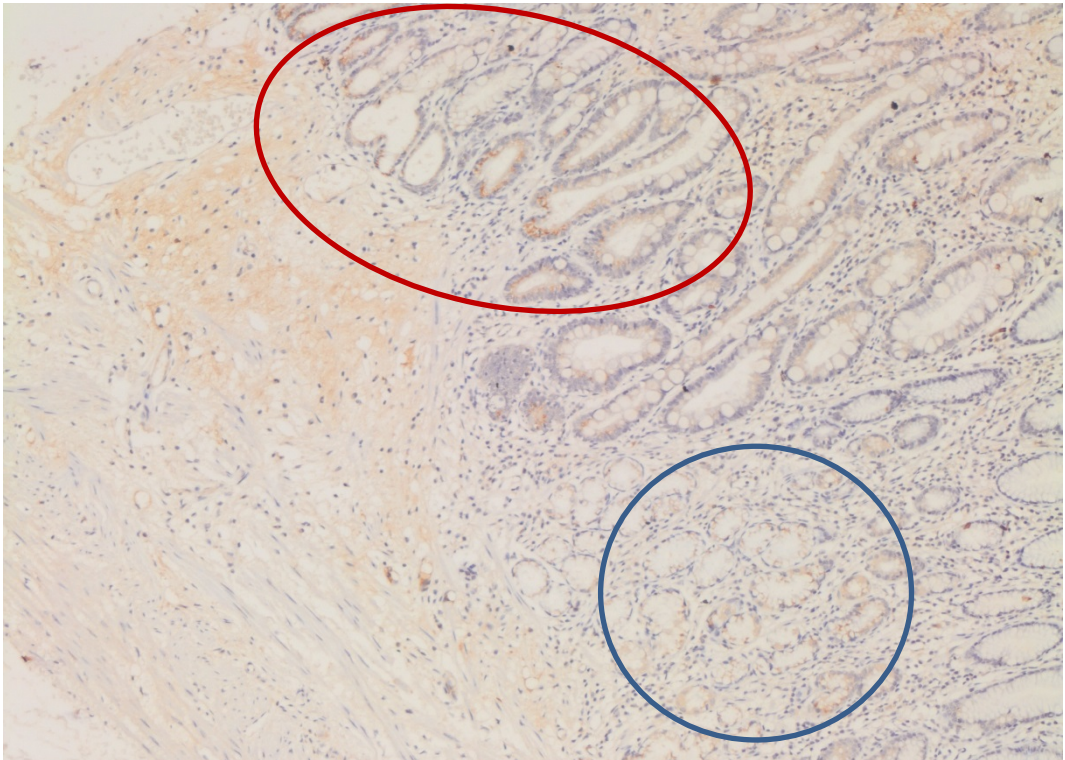


Şekil 91. Oksintik mukozada, pariyetal hücrelerin arasında, hafif şiddette Lgr5 boyanması (İHK, ×20). Kırmızı ok: Foveolar mürin ile çapraz reaksiyon. Siyah oklar: Lgr5 pozitif hücreler

15.3.2. Olgu 6



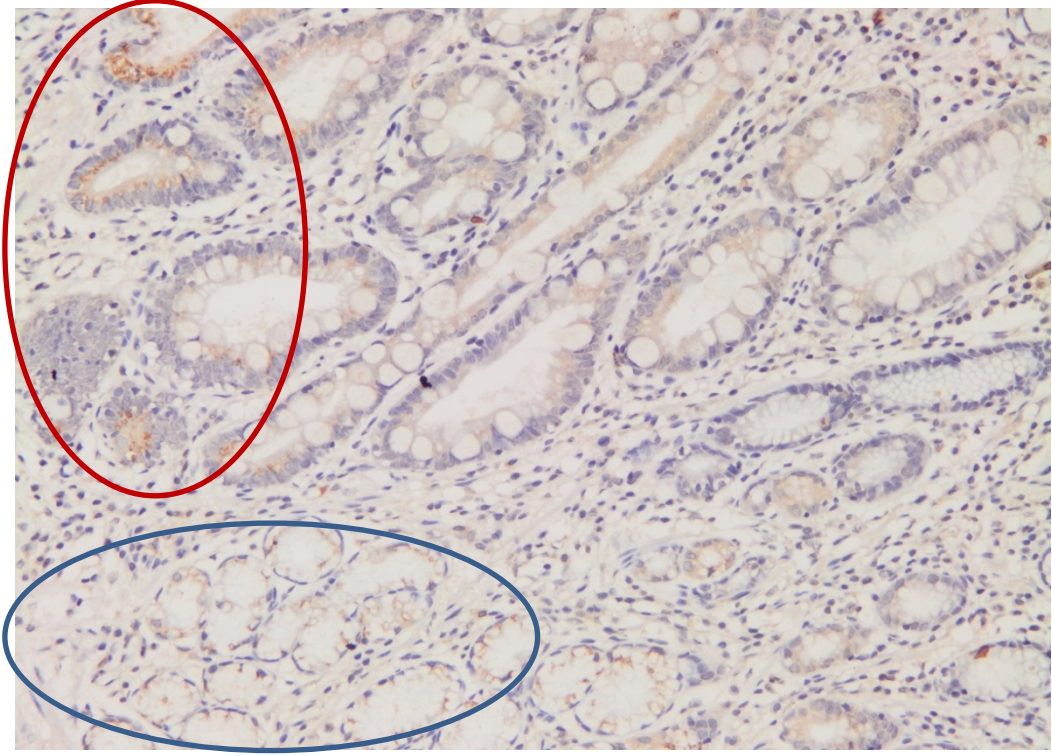
Şekil 92. Normal gastrik mukoza–intestinal metaplazi geçişi (H&E, ×10).



Şekil 93. Normal gastrik mukoza–intestinal metaplazi geçişi (Lgr5 İHK, ×10).

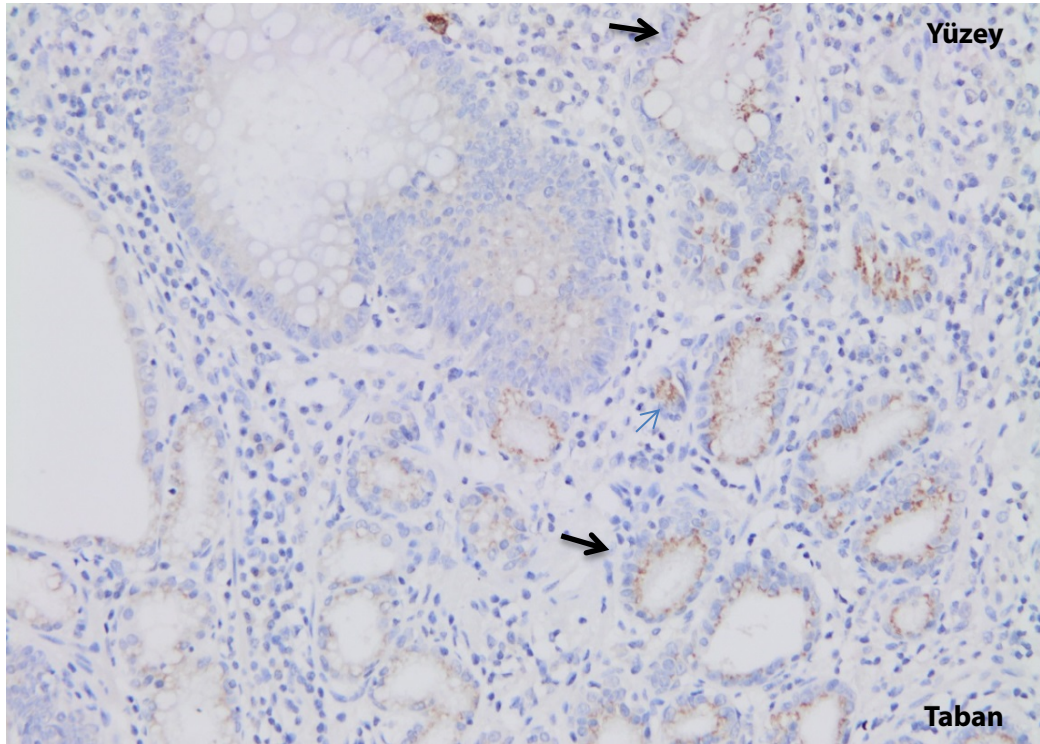
Mavi halka: Normal kript tabanlarında, hafif şiddette Lgr5 pozitifliği

Kırmızı halka: İntestinal metaplazi tabanında, orta şiddette Lgr5 pozitifliği



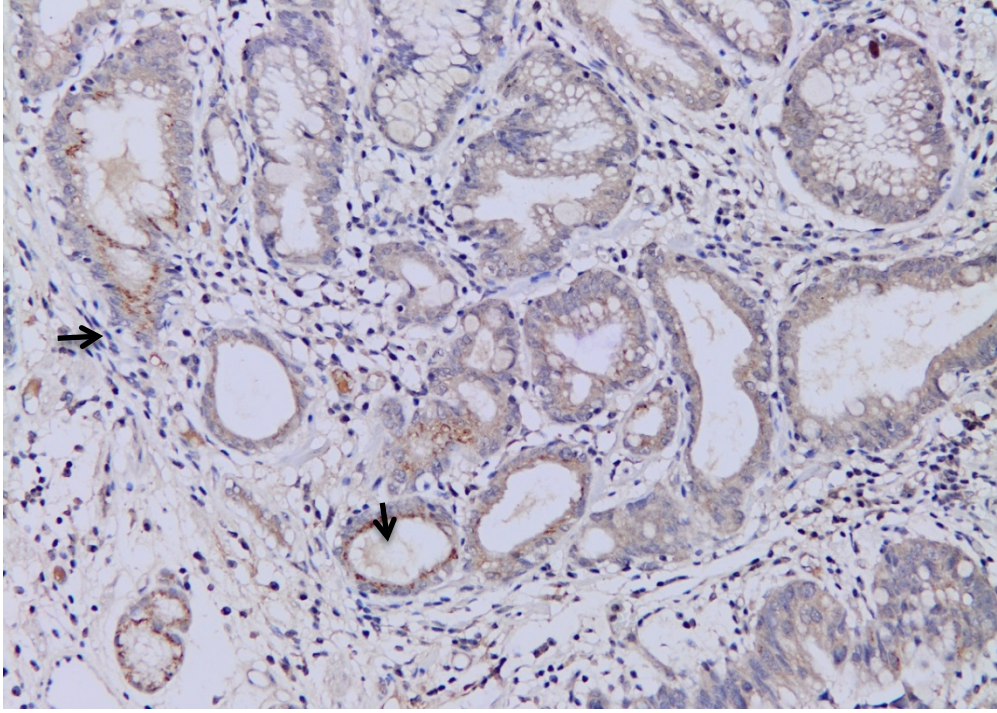
Şekil 94. Normal gastrik mukoza–intestinal metaplazi geçişi (Lgr5 İHK, ×20).
Mavi halka: Normal kript tabanlarında, hafif şiddette Lgr5 pozitifliği
Kırmızı halka: İntestinal metaplazi tabanında, orta şiddette Lgr5 pozitifliği

15.3.3. Olgu 7



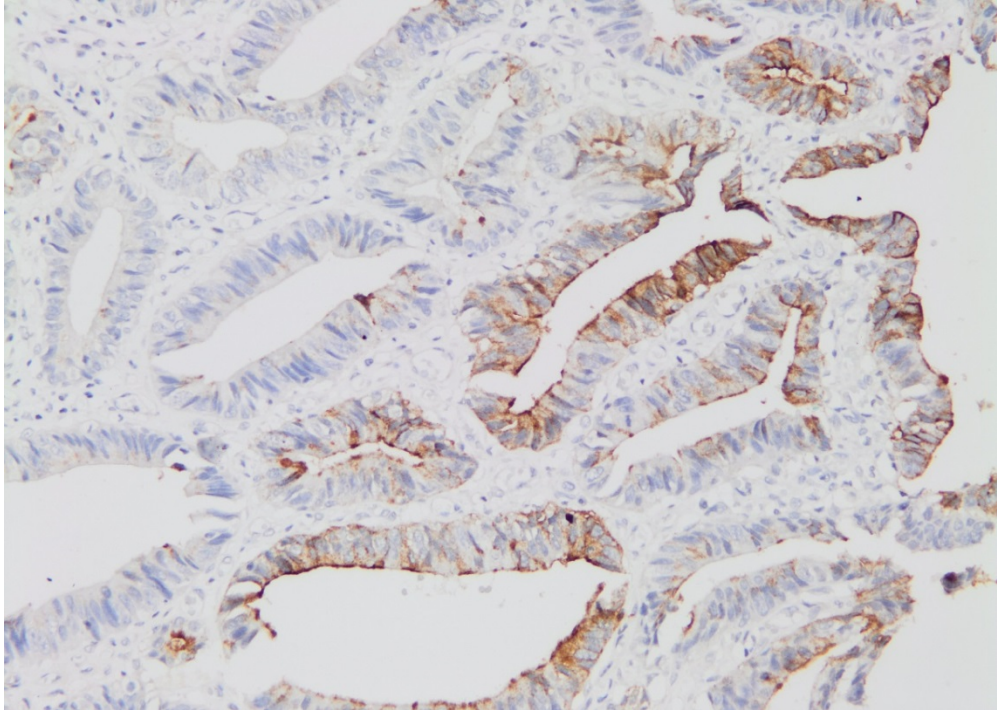
Şekil 95. İntestinal metaplazi odağında, kript tabanlarından yüzeye doğru ilerleyen, orta şiddette Lgr5 boyanması (İHK, ×20). *Oklar:* Lgr5 pozitif hücreler.

15.3.4. Olgu 8



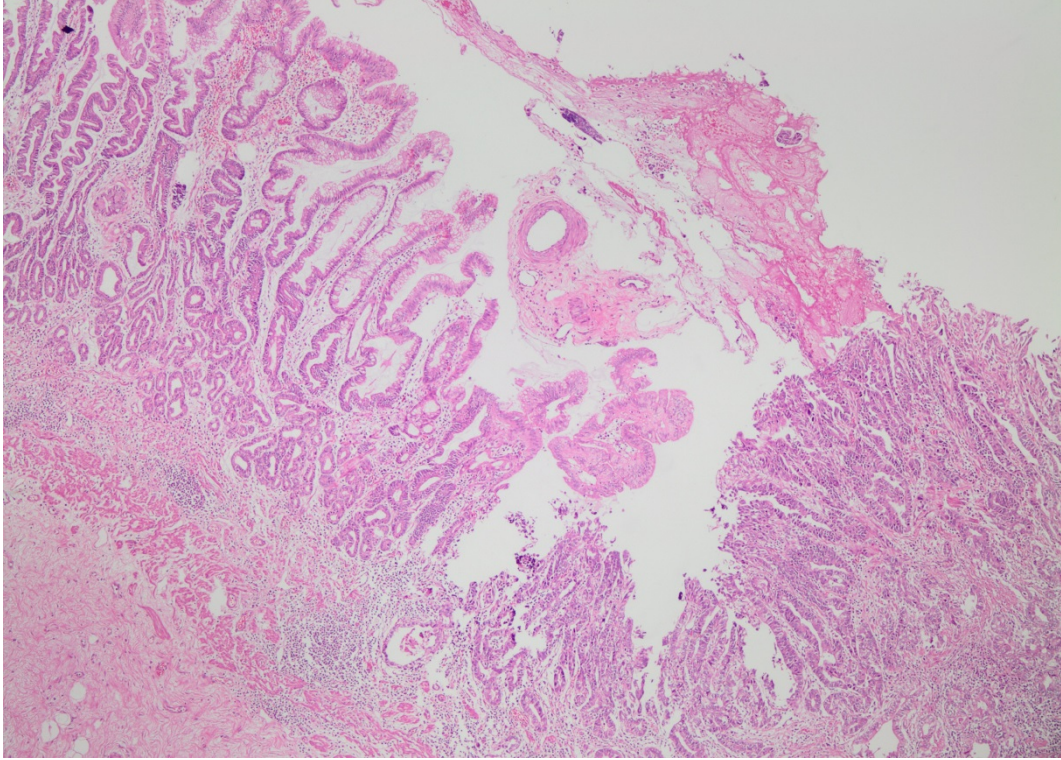
Şekil 96. Düşük dereceli displazi odağında, kript tabanlarında, orta şiddette Lgr5 boyanması (İHK, $\times 20$). *Oklar:* Lgr5 pozitif hücreler.

15.3.5. Olgu 9

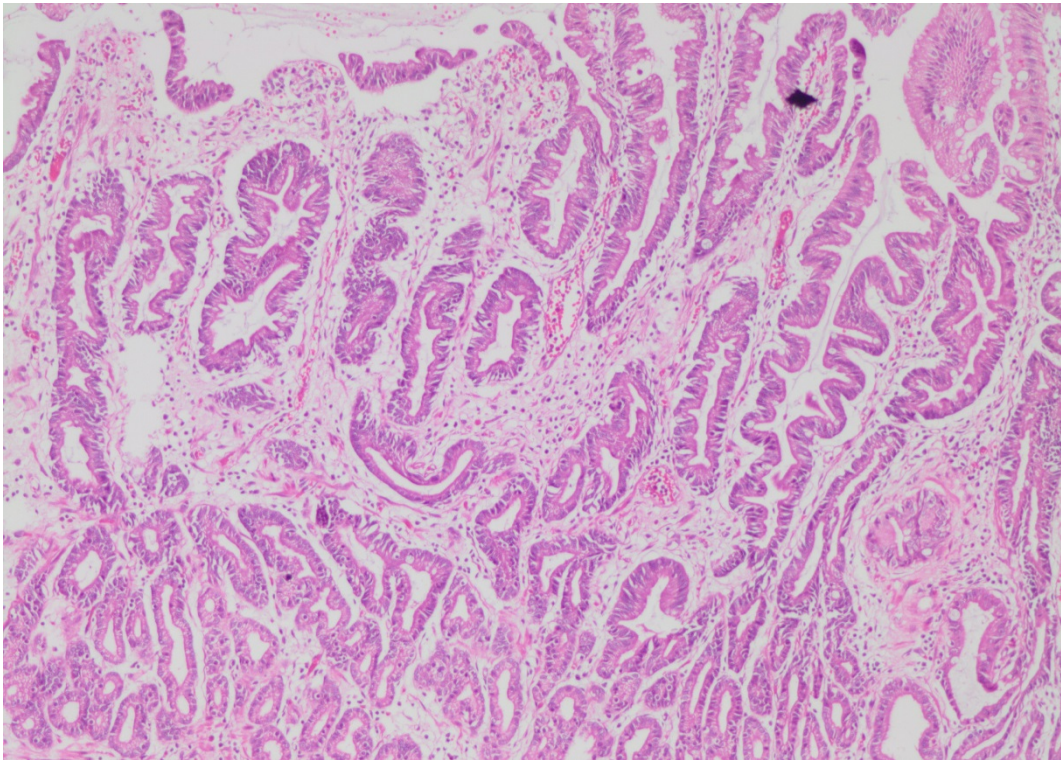


Şekil 97. Yüksek dereceli displazi odağında, lüminal yüzeyde şiddetli Lgr5 boyanması (İHK, $\times 20$).

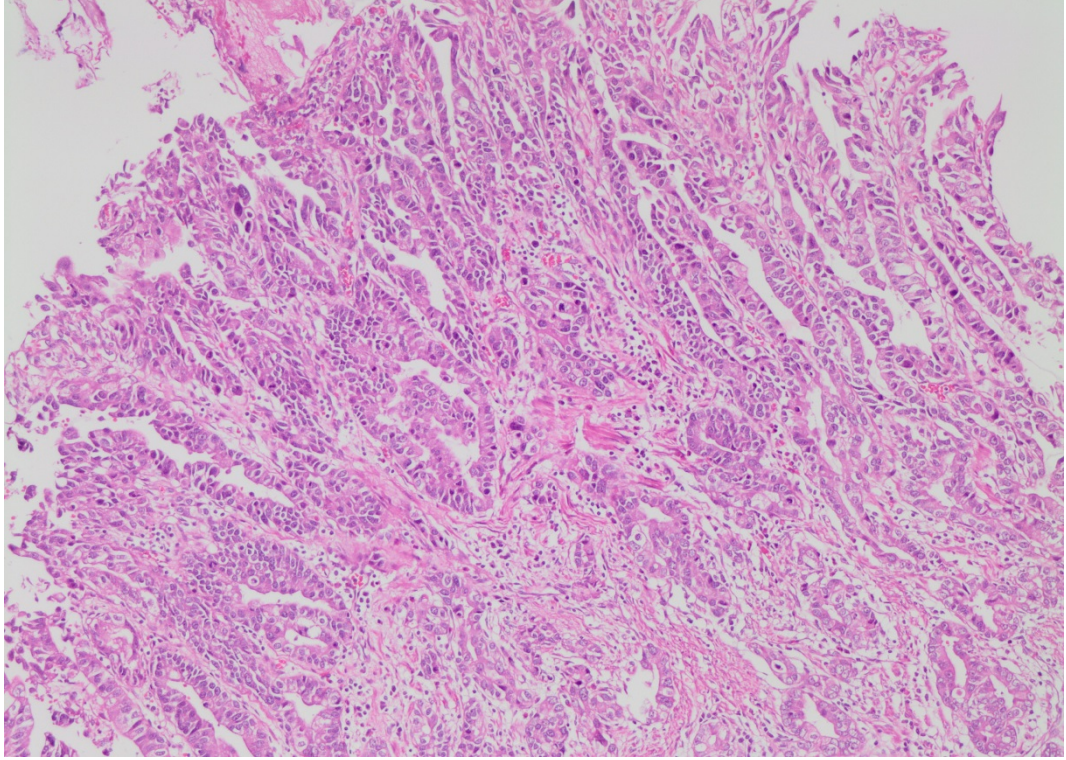
15.3.6. Olgu 10



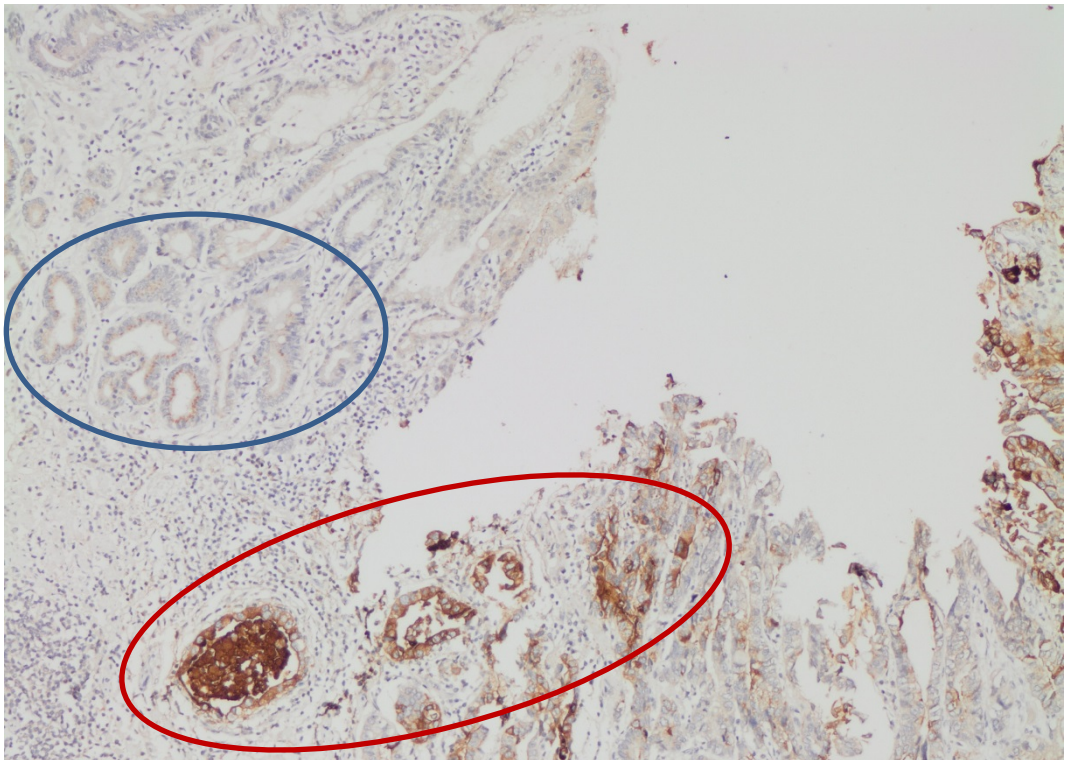
Şekil 98. Displazi–adenokarsinom geçişi (H&E, ×10).



Şekil 99. Displazi odağı (H&E, ×20).



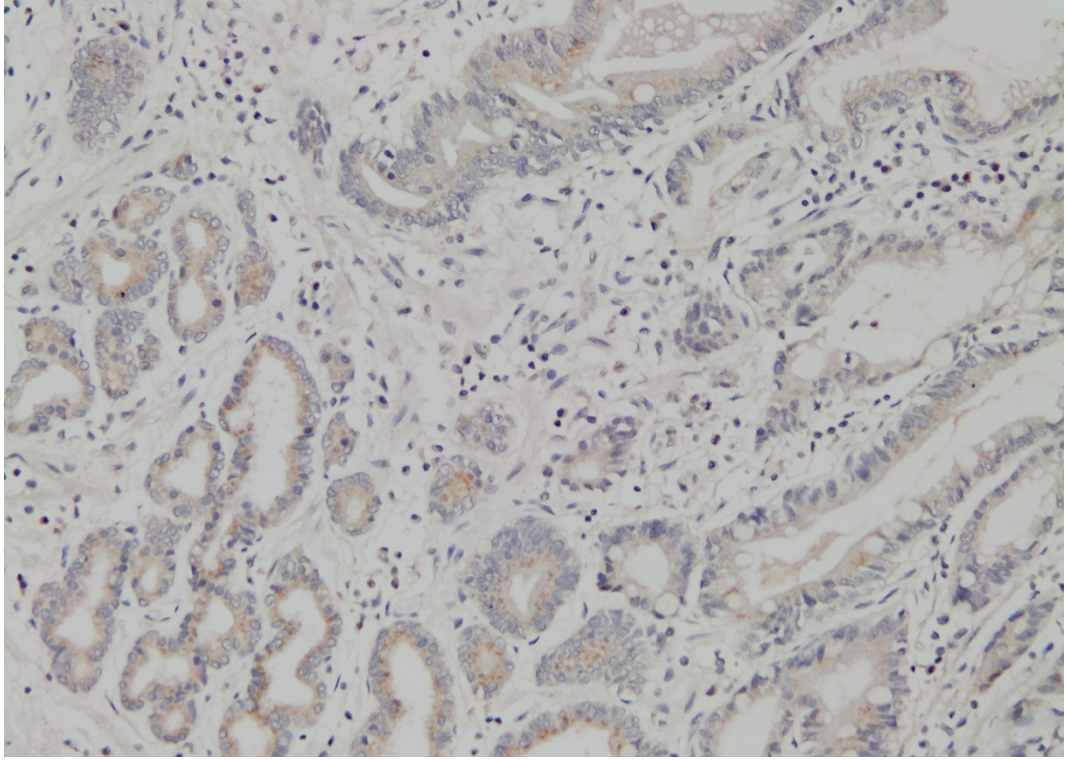
Şekil 100. Adenokarsinom odağı (H&E, ×20).



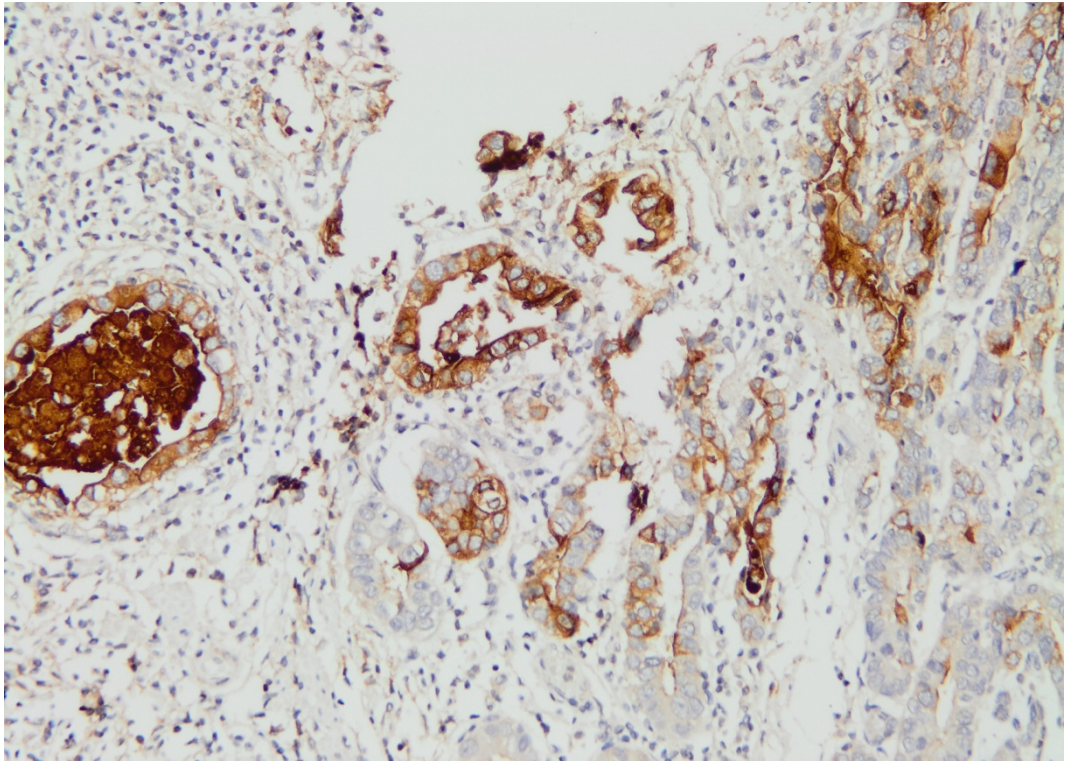
Şekil 101. Displazi–adenokarsinom geçişi (Lgr5 İHK, ×10).

Mavi halka: Displazi odağında, kript tabanlarında orta şiddette Lgr5 boyanması.

Kırmızı halka: Adenokarsinom odağında, lüminal şiddetli Lgr5 boyanması

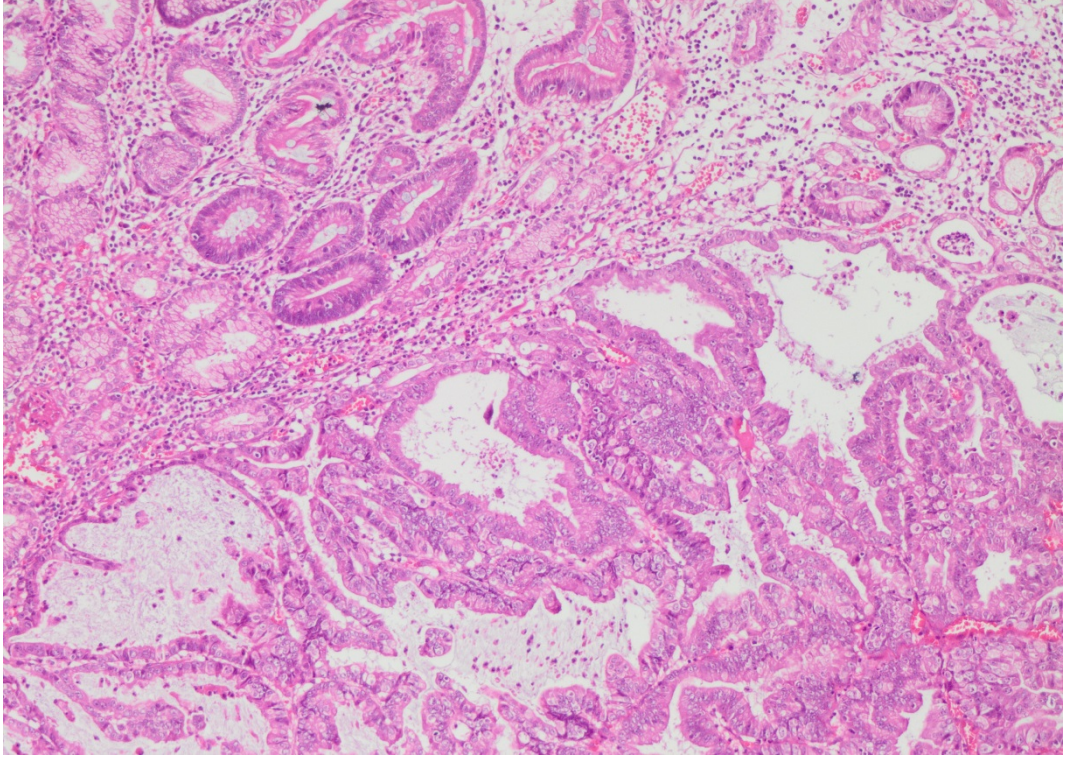


Şekil 102. Displazi odağında, kript tabanlarında orta şiddette Lgr5 boyanması (İHK, ×20).

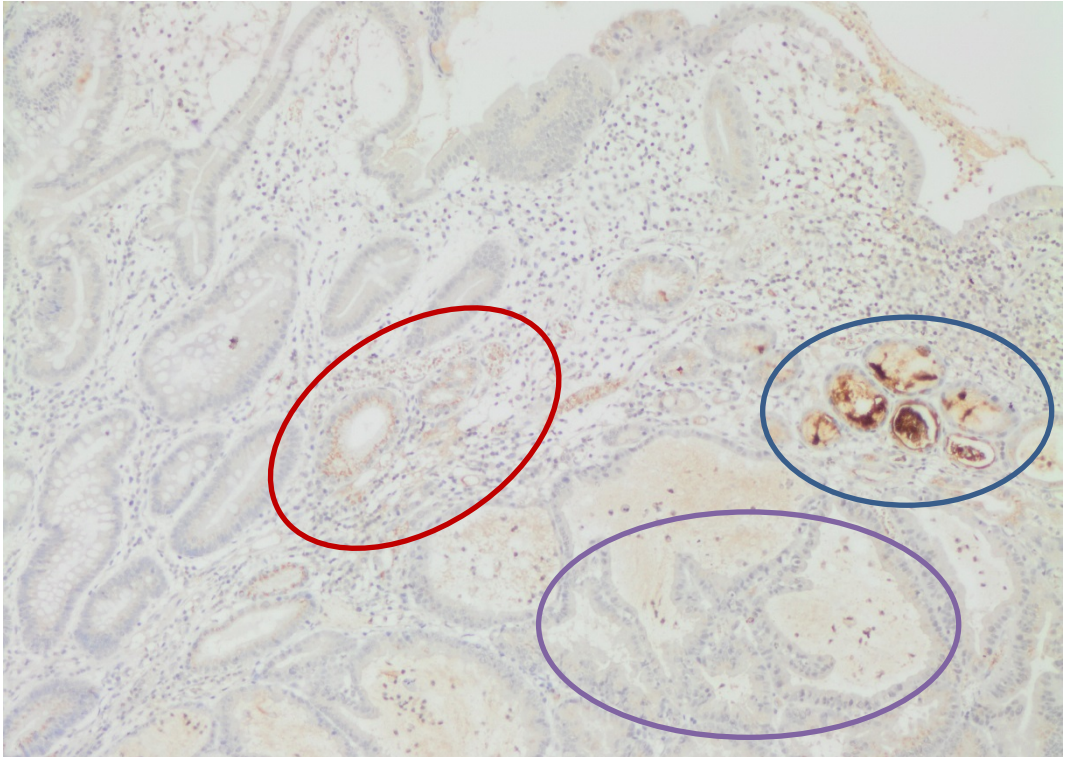


Şekil 103. Adenokarsinom odağında, lüminal yüzeyde şiddetli Lgr5 boyanması (İHK, ×20).

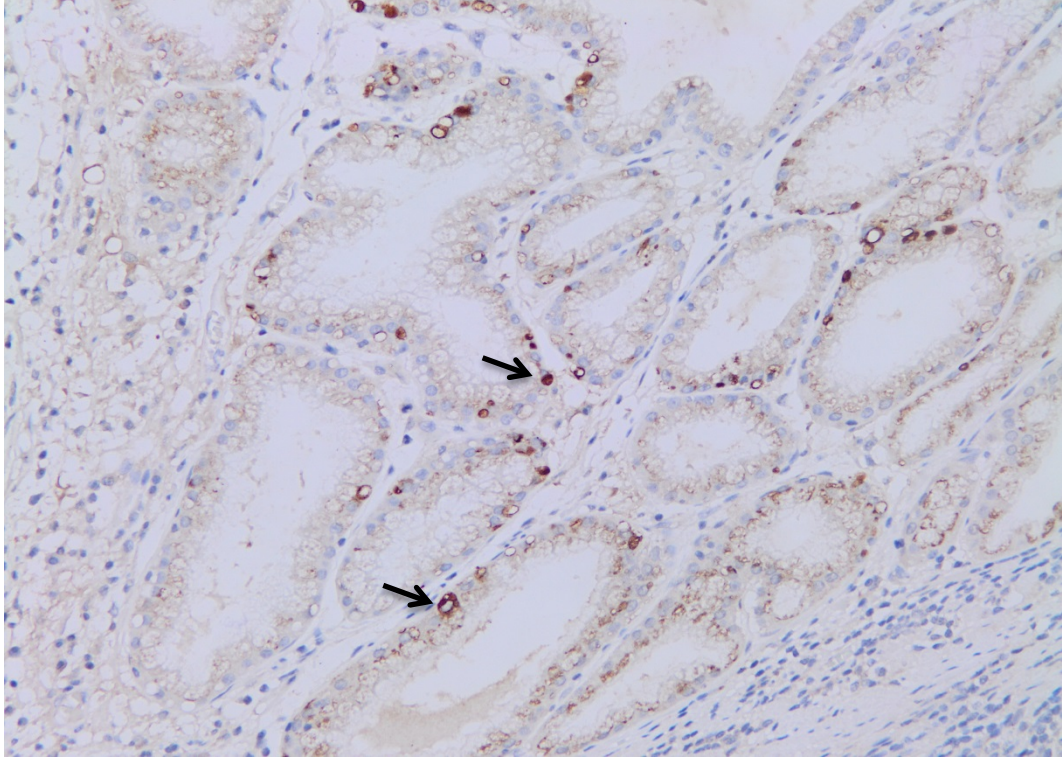
15.3.7. Olgu 11



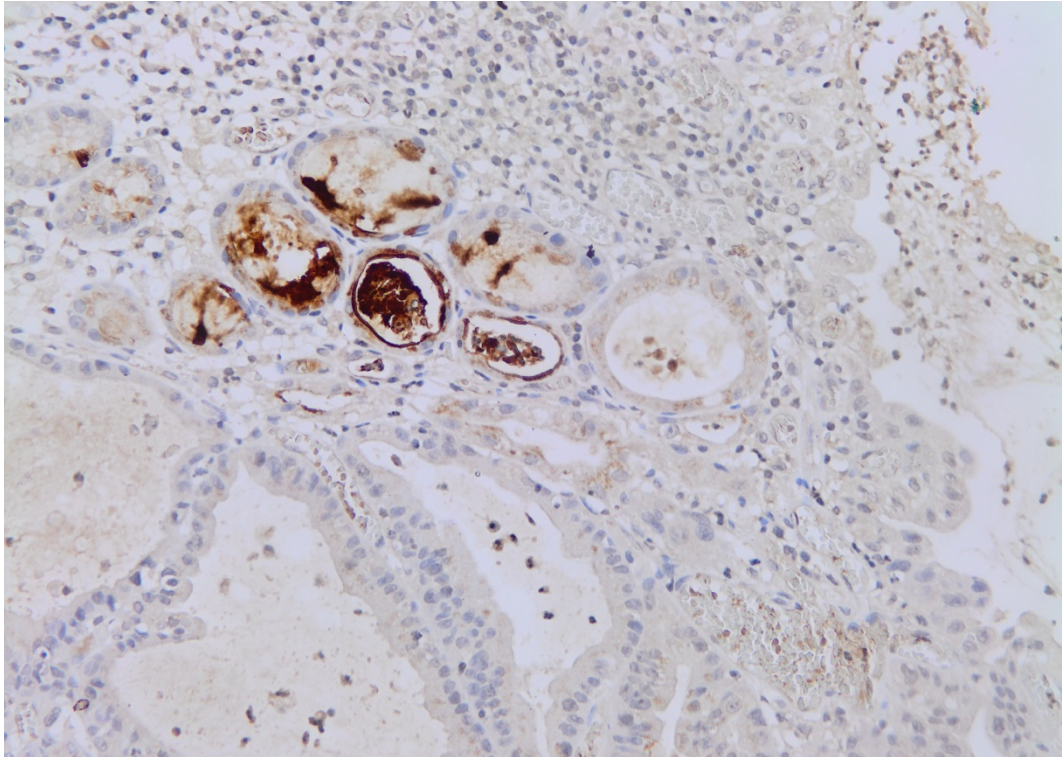
Şekil 104. Displazi-adenokarsinom geçişi (H&E, ×10).



Şekil 105. Displazi-adenokarsinom geçişi (Lgr5 İHK, ×10) Kırmızı halka Düşük dereceli displazi odağında, orta şiddette Lgr5 pozitifliği. Mavi halka: Yüksek dereceli displazi odağında, kuvvetli Lgr5 pozitifliği. Mor halka: Adenokarsinom odağında, negatif Lgr5 boyanması

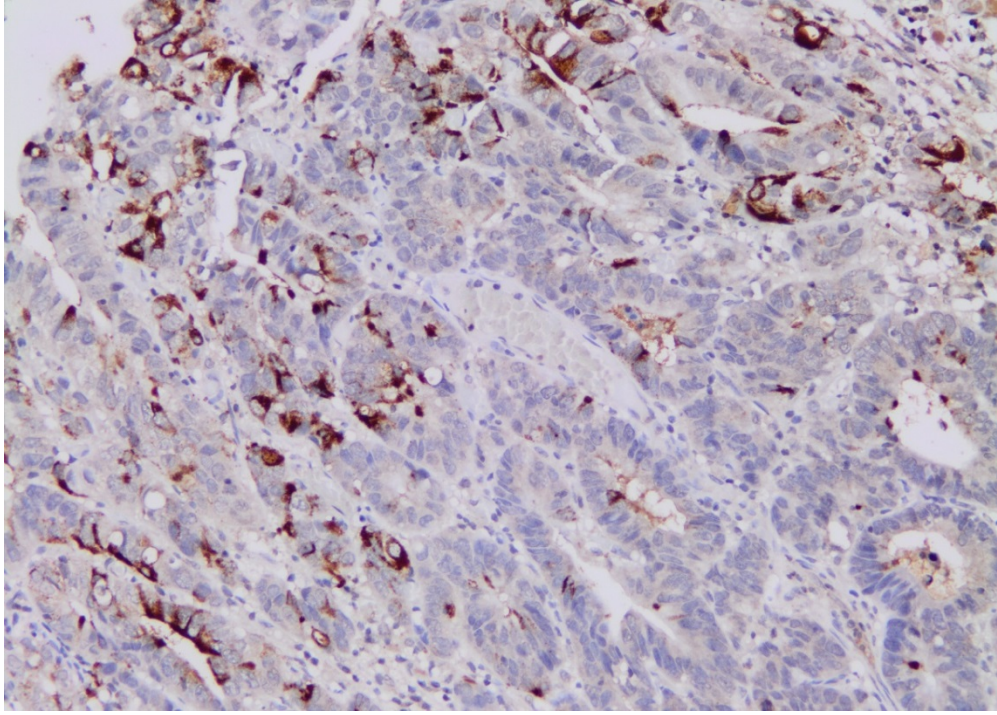


Şekil 106. Düşük dereceli displazi odağında, orta şiddette Lgr5 boyanması (İHK, ×20).
Oklar: Lgr5 pozitif hücreler.



Şekil 107. Yüksek dereceli displazi–adenokarsinom geçişi (İHK, ×20)
Mavi halka: Yüksek dereceli displazi odağında şiddetli sitoplazmik/membranöz Lgr5 boyanması. *Kırmızı halka:* Adenokarsinom odağında negatif Lgr5 boyanması.

15.3.8. Olgu 12



Şekil 108. Adenokarsinom odağında şiddetli sitoplazmik/membranöz Lgr5 boyanması (İHK, ×20).

16. BİBLİYOGRAFYA

1. Khosravi Shahi P, Díaz Muñoz de la Espada VM, García Alfonso P, et al. Management of gastric adenocarcinoma. *Clin Transl Oncol* 2007;9:438–442.
2. Yang L. Incidence and mortality of gastric cancer in China. *World J. Gastroenterol.* 2006;12:17–20.
3. Demir G, Unsal D, Zengin N, et al. Analysis of resected gastric cancer in Turkish population. *Hepatogastroenterology* 2013;60:1535–1540.
4. Correa P. A Human Model of Gastric Carcinogenesis. *Cancer Res* 1988;48:3554–3560.
5. Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nature Reviews Cancer* 2008;8:755–768. doi:10.1038/nrc2499.
6. Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res.* 2003;63:5821–5828.
7. Rocco A. Cancer stem cell hypothesis and gastric carcinogenesis: Experimental evidence and unsolved questions. *World Journal of Gastrointestinal Oncology* 2012;4:54. doi:10.4251/wjgo.v4.i3.54.
8. Takaishi S, Okumura T, Tu S, et al. Identification of Gastric Cancer Stem Cells Using the Cell Surface Marker CD44. *Stem Cells* 2009;27:1006–1020. doi:10.1002/stem.30.
9. Wakamatsu Y, Sakamoto N, Oo HZ, et al. Expression of cancer stem cell markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumor and lymph node metastasis of gastric cancer: Gastric cancer stem cell markers. *Pathology International* 2012;62:112–119. doi:10.1111/j.1440-1827.2011.02760.x.
10. Mayer B, Jauch KW, Schildberg FW, et al. De-novo expression of CD44 and survival in gastric cancer. *The Lancet* 1993;342:1019–1022. doi:10.1016/0140-6736(93)92879-X.
11. Barker N, Huch M, Kujala P, et al. Lgr5+ve Stem Cells Drive Self-Renewal in the Stomach and Build Long-Lived Gastric Units In Vitro. *Cell Stem Cell* 2010;6:25–36. doi:10.1016/j.stem.2009.11.013.

12. Simon E, Petke D, Böger C, et al. The Spatial Distribution of LGR5+ Cells Correlates With Gastric Cancer Progression. *PLoS ONE* 2012;7:e35486. doi:10.1371/journal.pone.0035486.
13. Becker L, Huang Q, Mashimo H. Immunostaining of Lgr5, an Intestinal Stem Cell Marker, in Normal and Premalignant Human Gastrointestinal Tissue. *The Scientific World JOURNAL* 2008;8:1168–1176. doi:10.1100/tsw.2008.148.
14. Zhong Y, Shen S, Zhou Y, et al. ALDH1 is a better clinical indicator for relapse of invasive ductal breast cancer than the CD44+/CD24- phenotype. *Med. Oncol.* 2014;31:864. doi:10.1007/s12032-014-0864-0.
15. Yao T, Wu Z, Liu Y, et al. Aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) positivity correlates with poor prognosis in cervical cancer. *J. Int. Med. Res.* 2014;42:1038–1042. doi:10.1177/0300060514527060.
16. Zhou F, Mu Y-D, Liang J, et al. Expression and prognostic value of tumor stem cell markers ALDH1 and CD133 in colorectal carcinoma. *Oncol Lett* 2014;7:507–512. doi:10.3892/ol.2013.1723.
17. Ellis H. Anatomy of the stomach. *Surgery (Oxford)* 2011;29:541–543. doi:10.1016/j.mpsur.2011.08.003.
18. Mills SE, ed. *Histology for Pathologists*. 3rd ed. Philadelphia, PA: LWW; 2007.
19. Chandrasoma PT, Der R, Ma Y, et al. Histology of the gastroesophageal junction: an autopsy study. *Am. J. Surg. Pathol.* 2000;24:402–409.
20. Kilgore SP, Ormsby AH, Gramlich TL, et al. The gastric cardia: fact or fiction? *Am. J. Gastroenterol.* 2000;95:921–924. doi:10.1111/j.1572-0241.2000.01930.x.
21. Zhou H, Greco MA, Daum F, et al. Origin of cardiac mucosa: ontogenic consideration. *Pediatr. Dev. Pathol.* 2001;4:358–363.
22. Singh SR. Gastric cancer stem cells: A novel therapeutic target. *Cancer Letters* 2013;338:110–119. doi:10.1016/j.canlet.2013.03.035.
23. Saikawa Y, Fukuda K, Takahashi T, et al. Gastric carcinogenesis and the cancer stem cell hypothesis. *Gastric Cancer* 2010;13:11–24. doi:10.1007/s10120-009-0537-4.

24. Yalcin S, Gumus M, Kilickap S, et al. End-of-study results of Turkish gastric cancer patients from the global REGATE study. *J BUON* 2014;19:377–387.
25. Tsukamoto T, Mizoshita T, Tatematsu M. Animal models of stomach carcinogenesis. *Toxicol Pathol* 2007;35:636–648.
doi:10.1080/01926230701420632.
26. You WC, Zhang L, Yang CS, et al. Nitrite, N-nitroso compounds, and other analytes in physiological fluids in relation to precancerous gastric lesions. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1996;5:47–52.
27. Jakszyn P, Bingham S, Pera G, et al. Endogenous versus exogenous exposure to N-nitroso compounds and gastric cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST) study. *Carcinogenesis* 2006;27:1497–1501. doi:10.1093/carcin/bgl019.
28. Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Processed meat consumption and stomach cancer risk: a meta-analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006;98:1078–1087.
doi:10.1093/jnci/djj301.
29. Liu C, Russell RM. Nutrition and gastric cancer risk: an update. *Nutr. Rev.* 2008;66:237–249. doi:10.1111/j.1753-4887.2008.00029.x.
30. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A. Fruit and vegetable consumption and incidence of gastric cancer: a prospective study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2006;15:1998–2001. doi:10.1158/1055-9965.EPI-06-0402.
31. Wang Q, Chen Y, Wang X, et al. Consumption of fruit, but not vegetables, may reduce risk of gastric cancer: results from a meta-analysis of cohort studies. *Eur. J. Cancer* 2014;50:1498–1509. doi:10.1016/j.ejca.2014.02.009.
32. Zhang Z, Xu G, Ma M, et al. Dietary fiber intake reduces risk for gastric cancer: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2013;145:113–120.e3.
doi:10.1053/j.gastro.2013.04.001.
33. Carrasco G, Corvalan AH. Helicobacter pylori-Induced Chronic Gastritis and Assessing Risks for Gastric Cancer. *Gastroenterology Research and Practice* 2013;2013. doi:10.1155/2013/393015.
34. Kuipers EJ, Pérez-Pérez GI, Meuwissen SG, et al. Helicobacter pylori and atrophic gastritis: importance of the cagA status. *J. Natl. Cancer Inst.* 1995;87:1777–1780.

35. Cid TP, Fernández MC, Benito Martínez S, et al. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2013;18 Suppl 1:12–17. doi:10.1111/hel.12076.
36. Humar B, Graziano F, Cascinu S, et al. Association of CDH1 haplotypes with susceptibility to sporadic diffuse gastric cancer. *Oncogene* 2002;21:8192–8195. doi:10.1038/sj.onc.1205921.
37. Taghavi S, Jayarajan SN, Davey A, et al. Prognostic Significance of Signet Ring Gastric Cancer. *JCO* 2012;30:3493–3498. doi:10.1200/JCO.2012.42.6635.
38. Zhang M, Zhu G, Zhang H, et al. Clinicopathologic Features of Gastric Carcinoma with Signet Ring Cell Histology. *J Gastrointest Surg* 2010;14:601–606. doi:10.1007/s11605-009-1127-9.
39. Odze RD, Goldblum JR. *Surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract, and pancreas*. Philadelphia: Elsevier, Saunders; 2009.
40. Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, et al. *Gastrointestinal Pathology: An Atlas and Text*. 3rd ed. Philadelphia, PA: LWW; 2007.
41. Gutiérrez-González L, Wright NA. Biology of intestinal metaplasia in 2008: more than a simple phenotypic alteration. *Dig Liver Dis* 2008;40:510–522. doi:10.1016/j.dld.2008.02.029.
42. Yang Zhang, Lian Zhang, Kai-feng Pan, et al. Bio-characteristics of intestinal metaplasia in the stomach: Hyperproliferative and usual type. *Chin. J. Cancer Res*. 2006;18:99–104. doi:10.1007/s11670-006-0099-5.
43. Joypaul BV, Newman EL, Hopwood D, et al. Expression of p53 protein in normal, dysplastic, and malignant gastric mucosa: an immunohistochemical study. *J. Pathol*. 1993;170:279–283. doi:10.1002/path.1711700310.
44. Lauwers GY, Riddell RH. Gastric epithelial dysplasia. *Gut* 1999;45:784–790.
45. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759–767. doi:10.1016/0092-8674(90)90186-I.
46. Rugge M, Correa P, Dixon MF, et al. Gastric dysplasia: the Padova international classification. *The American Journal of Surgical Pathology* 2000;24:167–176.

47. Shah MA, Khanin R, Tang L, et al. Molecular Classification of Gastric Cancer: A New Paradigm. *Clin Cancer Res* 2011;17:2693–2701. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2203.
48. Figueiredo C, Garcia-Gonzalez MA, Machado JC. Molecular Pathogenesis of Gastric Cancer. *Helicobacter* 2013;18:28–33. doi:10.1111/hel.12083.
49. Chu C-M, Chen C-J, Chan D-C, et al. CDH1 polymorphisms and haplotypes in sporadic diffuse and intestinal gastric cancer: a case-control study based on direct sequencing analysis. *World J Surg Oncol* 2014;12:80. doi:10.1186/1477-7819-12-80.
50. Guilford P, Hopkins J, Harraway J, et al. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature* 1998;392:402–405. doi:10.1038/32918.
51. Brooks-Wilson AR, Kaurah P, Suriano G, et al. Germline E-cadherin mutations in hereditary diffuse gastric cancer: assessment of 42 new families and review of genetic screening criteria. *J. Med. Genet.* 2004;41:508–517.
52. Kaurah P, MacMillan A, Boyd N, et al. Founder and recurrent CDH1 mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer. *JAMA* 2007;297:2360–2372. doi:10.1001/jama.297.21.2360.
53. Gayther SA, Goringe KL, Ramus SJ, et al. Identification of germ-line E-cadherin mutations in gastric cancer families of European origin. *Cancer Res.* 1998;58:4086–4089.
54. Fitzgerald RC, Hardwick R, Huntsman D, et al. Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research. *J. Med. Genet.* 2010;47:436–444. doi:10.1136/jmg.2009.074237.
55. Barber ME, Save V, Carneiro F, et al. Histopathological and molecular analysis of gastrectomy specimens from hereditary diffuse gastric cancer patients has implications for endoscopic surveillance of individuals at risk. *J. Pathol.* 2008;216:286–294. doi:10.1002/path.2415.
56. Rogers WM, Dobo E, Norton JA, et al. Risk-reducing total gastrectomy for germline mutations in E-cadherin (CDH1): pathologic findings with clinical implications. *Am. J. Surg. Pathol.* 2008;32:799–809. doi:10.1097/PAS.0b013e31815e7f1a.

57. Tamura G, Yin J, Wang S, et al. E-Cadherin gene promoter hypermethylation in primary human gastric carcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000;92:569–573.
58. Lee KH, Hwang D, Kang KY, et al. Frequent promoter methylation of CDH1 in non-neoplastic mucosa of sporadic diffuse gastric cancer. *Anticancer Res.* 2013;33:3765–3774.
59. Corso G, Carvalho J, Marrelli D, et al. Somatic mutations and deletions of the E-cadherin gene predict poor survival of patients with gastric cancer. *J. Clin. Oncol.* 2013;31:868–875. doi:10.1200/JCO.2012.44.4612.
60. Machado JC, Oliveira C, Carvalho R, et al. E-cadherin gene (CDH1) promoter methylation as the second hit in sporadic diffuse gastric carcinoma. *Oncogene* 2001;20:1525–1528. doi:10.1038/sj.onc.1204234.
61. Grady WM, Willis J, Guilford PJ, et al. Methylation of the CDH1 promoter as the second genetic hit in hereditary diffuse gastric cancer. *Nat. Genet.* 2000;26:16–17. doi:10.1038/79120.
62. Study Group of Millennium Genome Project for Cancer, Sakamoto H, Yoshimura K, et al. Genetic variation in PSCA is associated with susceptibility to diffuse-type gastric cancer. *Nat. Genet.* 2008;40:730–740. doi:10.1038/ng.152.
63. Saeki N, Sakamoto H, Yoshida T. Mucin 1 gene (MUC1) and gastric-cancer susceptibility. *Int J Mol Sci* 2014;15:7958–7973. doi:10.3390/ijms15057958.
64. Lee KH, Lee JS, Suh C, et al. Clinicopathologic significance of the K-ras gene codon 12 point mutation in stomach cancer. An analysis of 140 cases. *Cancer* 1995;75:2794–2801.
65. Corso G, Velho S, Paredes J, et al. Oncogenic mutations in gastric cancer with microsatellite instability. *Eur. J. Cancer* 2011;47:443–451. doi:10.1016/j.ejca.2010.09.008.
66. Kurokawa Y, Matsuura N, Kawabata R, et al. Prognostic Impact of Major Receptor Tyrosine Kinase Expression in Gastric Cancer. *Ann. Surg. Oncol.* 2014. doi:10.1245/s10434-014-3690-x.
67. Guo T, Yang J, Yao J, et al. Expression of MACC1 and c-Met in human gastric cancer and its clinical significance. *Cancer Cell Int.* 2013;13:121. doi:10.1186/1475-2867-13-121.

68. Sotoudeh K, Hashemi F, Madjd Z, et al. The clinicopathologic association of c-MET overexpression in Iranian gastric carcinomas; an immunohistochemical study of tissue microarrays. *Diagn Pathol* 2012;7:57. doi:10.1186/1746-1596-7-57.
69. Oliveira MJ, Costa AM, Costa AC, et al. CagA associates with c-Met, E-cadherin, and p120-catenin in a multiproteic complex that suppresses *Helicobacter pylori*-induced cell-invasive phenotype. *J. Infect. Dis.* 2009;200:745–755. doi:10.1086/604727.
70. Kang Y-K, Muro K, Ryu M-H, et al. A phase II trial of a selective c-Met inhibitor tivantinib (ARQ 197) monotherapy as a second- or third-line therapy in the patients with metastatic gastric cancer. *Invest New Drugs* 2014;32:355–361. doi:10.1007/s10637-013-0057-2.
71. Ashktorab H, Ahmed A, Littleton G, et al. p53 and p14 increase sensitivity of gastric cells to *H. pylori*-induced apoptosis. *Dig. Dis. Sci.* 2003;48:1284–1291.
72. Ushiku T, Chong J-M, Uozaki H, et al. p73 gene promoter methylation in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Int. J. Cancer* 2007;120:60–66. doi:10.1002/ijc.22275.
73. Tomkova K, Belkhiri A, El-Rifai W, et al. p73 isoforms can induce T-cell factor-dependent transcription in gastrointestinal cells. *Cancer Res.* 2004;64:6390–6393. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-2176.
74. Leung WK, Yu J, Chan FKL, et al. Expression of trefoil peptides (TFF1, TFF2, and TFF3) in gastric carcinomas, intestinal metaplasia, and non-neoplastic gastric tissues. *J. Pathol.* 2002;197:582–588. doi:10.1002/path.1147.
75. Wu MS, Shun CT, Wang HP, et al. Loss of pS2 protein expression is an early event of intestinal-type gastric cancer. *Jpn. J. Cancer Res.* 1998;89:278–282.
76. Lefebvre O, Chenard MP, Masson R, et al. Gastric mucosa abnormalities and tumorigenesis in mice lacking the pS2 trefoil protein. *Science* 1996;274:259–262.
77. Kuzushita N, Rogers AB, Monti NA, et al. p27kip1 deficiency confers susceptibility to gastric carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected mice. *Gastroenterology* 2005;129:1544–1556. doi:10.1053/j.gastro.2005.07.056.

78. Leung WK, Man EPS, Yu J, et al. Effects of *Helicobacter pylori* eradication on methylation status of E-cadherin gene in noncancerous stomach. *Clin. Cancer Res.* 2006;12:3216–3221. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-2442.
79. Bakulski KM, Fallin MD. Epigenetic epidemiology: promises for public health research. *Environ. Mol. Mutagen.* 2014;55:171–183. doi:10.1002/em.21850.
80. Ushijima T, Nakajima T, Maekita T. DNA methylation as a marker for the past and future. *J. Gastroenterol.* 2006;41:401–407. doi:10.1007/s00535-006-1846-6.
81. Dammann R, Strunnikova M, Schagdarsurengin U, et al. CpG island methylation and expression of tumour-associated genes in lung carcinoma. *Eur. J. Cancer* 2005;41:1223–1236. doi:10.1016/j.ejca.2005.02.020.
82. Ushijima T. Epigenetic field for cancerization. *J. Biochem. Mol. Biol.* 2007;40:142–150.
83. Rosenbluh J, Wang X, Hahn WC. Genomic insights into WNT/ β -catenin signaling. *Trends Pharmacol. Sci.* 2014;35:103–109. doi:10.1016/j.tips.2013.11.007.
84. Natalwala A, Spychal R, Tselepis C. Epithelial-mesenchymal transition mediated tumorigenesis in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2008;14:3792–3797. doi:10.3748/wjg.14.3792.
85. An JY, Kang TH, Choi MG, et al. Borrmann type IV: an independent prognostic factor for survival in gastric cancer. *J. Gastrointest. Surg.* 2008;12:1364–1369. doi:10.1007/s11605-008-0516-9.
86. Bosman FT, Carnerio F, Hruban RH, et al. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC) Press; 2010.
87. Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, et al. Papillary adenocarcinoma of the stomach. *Gastric Cancer* 2000;3:33–38.
88. Uefuji K, Ichikura T, Tamakuma S. Clinical and prognostic characteristics of papillary clear carcinoma of stomach. *Surg. Today* 1996;26:158–163.
89. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965;64:31–49.

90. Songun I, van de Velde CJ, Arends JW, et al. Classification of gastric carcinoma using the Goseki system provides prognostic information additional to TNM staging. *Cancer* 1999;85:2114–2118.
91. Matsunou H, Konishi F, Hori H, et al. Characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma with lymphoid stroma in Japan. *Cancer* 1996;77:1998–2004. doi:10.1002/(SICI)1097-0142(19960515)77:10<1998::AID-CNCR6>3.0.CO;2-D.
92. Kang GH, Lee S, Kim WH, et al. Epstein-barr virus-positive gastric carcinoma demonstrates frequent aberrant methylation of multiple genes and constitutes CpG island methylator phenotype-positive gastric carcinoma. *Am. J. Pathol.* 2002;160:787–794. doi:10.1016/S0002-9440(10)64901-2.
93. Chiaravalli AM, Feltri M, Bertolini V, et al. Intratumour T cells, their activation status and survival in gastric carcinomas characterised for microsatellite instability and Epstein-Barr virus infection. *Virchows Arch.* 2006;448:344–353. doi:10.1007/s00428-005-0066-4.
94. Kazzaz BA, Eulderink F. Paneth cell-rich carcinoma of the stomach. *Histopathology* 1989;15:303–305.
95. Inagawa S, Shimazaki J, Hori M, et al. Hepatoid adenocarcinoma of the stomach. *Gastric Cancer* 2001;4:43–52. doi:10.1007/s101200100016.
96. Maitra A, Murakata LA, Albores-Saavedra J. Immunoreactivity for hepatocyte paraffin 1 antibody in hepatoid adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001;115:689–694. doi:10.1309/5C2C-FP3H-GE7Q-2XJ5.
97. Ushiku T, Shinozaki A, Shibahara J, et al. SALL4 represents fetal gut differentiation of gastric cancer, and is diagnostically useful in distinguishing hepatoid gastric carcinoma from hepatocellular carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2010;34:533–540. doi:10.1097/PAS.0b013e3181d1dcdd.
98. Koide N, Nishio A, Igarashi J, et al. Alpha-fetoprotein-producing gastric cancer: histochemical analysis of cell proliferation, apoptosis, and angiogenesis. *Am. J. Gastroenterol.* 1999;94:1658–1663. doi:10.1111/j.1572-0241.1999.01158.x.
99. Wurzel J, Brooks JJ. Primary gastric choriocarcinoma: immunohistochemistry, postmortem documentation, and hormonal effects in a postmenopausal female. *Cancer* 1981;48:2756–2761.

100. Robey-Cafferty SS, Ro JY, McKee EG. Gastric parietal cell carcinoma with an unusual, lymphoma-like histologic appearance: report of a case. *Mod. Pathol.* 1989;2:536–540.
101. Yang G-Y, Liao J, Cassai ND, et al. Parietal cell carcinoma of gastric cardia: immunophenotype and ultrastructure. *Ultrastruct Pathol* 2003;27:87–94.
102. Takubo K, Honma N, Sawabe M, et al. Oncocytic adenocarcinoma of the stomach: parietal cell carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2002;26:458–465.
103. Sato Y, Shimosono T, Kawano S, et al. Gastric carcinosarcoma, coexistence of adenosquamous carcinoma and rhabdomyosarcoma: a case report. *Histopathology* 2001;39:543–544.
104. Ikeda Y, Kosugi S-I, Nishikura K, et al. Gastric carcinosarcoma presenting as a huge epigastric mass. *Gastric Cancer* 2007;10:63–68. doi:10.1007/s10120-006-0405-4.
105. Nielsen K, Teglbjaerg PS. Carcino-embryonic antigen (CEA) in gastric adenocarcinomas. Morphologic patterns and their relationship to a histogenetic classification. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A* 1982;90:393–396.
106. Park SY, Kim HS, Hong EK, et al. Expression of cytokeratins 7 and 20 in primary carcinomas of the stomach and colorectum and their value in the differential diagnosis of metastatic carcinomas to the ovary. *Hum. Pathol.* 2002;33:1078–1085. doi:10.1053/hupa.2002.129422.
107. Vaittinen S, Lukka R, Sahlgren C, et al. The expression of intermediate filament protein nestin as related to vimentin and desmin in regenerating skeletal muscle. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001;60:588–597.
108. Warner TF, Donnelly WJ, Hafez GR, et al. Immunocytochemical evidence for gastric proteases in adenocarcinoma of the stomach. *Cancer* 1986;58:1328–1332.
109. Yakeishi Y, Mori M, Enjoji M. Distribution of beta-human chorionic gonadotropin-positive cells in noncancerous gastric mucosa and in malignant gastric tumors. *Cancer* 1990;66:695–701.
110. Gürbüz Y, Kahlke V, Klöppel G. How do gastric carcinoma classification systems relate to mucin expression patterns? An immunohistochemical analysis in a series of advanced gastric carcinomas. *Virchows Arch.* 2002;440:505–511. doi:10.1007/s00428-002-0620-2.

111. Hundahl SA, Phillips JL, Menck HR. The National Cancer Data Base Report on poor survival of U.S. gastric carcinoma patients treated with gastrectomy: Fifth Edition American Joint Committee on Cancer staging, proximal disease, and the “different disease” hypothesis. *Cancer* 2000;88:921–932.
112. Washington K. 7th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Stomach. *Annals of Surgical Oncology* 2010;17:3077–3079. doi:10.1245/s10434-010-1362-z.
113. Lin W-L, Sun J-L, Chang S-C, et al. Factors predicting survival of patients with gastric cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014;15:5835–5838.
114. Adachi Y, Shiraishi N, Suematsu T, et al. Most important lymph node information in gastric cancer: multivariate prognostic study. *Ann. Surg. Oncol.* 2000;7:503–507.
115. Powell J, McConkey CC. The rising trend in oesophageal adenocarcinoma and gastric cardia. *Eur. J. Cancer Prev.* 1992;1:265–269.
116. Yang P, Zhou Y, Chen B, et al. Overweight, obesity and gastric cancer risk: results from a meta-analysis of cohort studies. *Eur. J. Cancer* 2009;45:2867–2873. doi:10.1016/j.ejca.2009.04.019.
117. Kim MA, Lee HS, Yang H-K, et al. Clinicopathologic and protein expression differences between cardia carcinoma and noncardia carcinoma of the stomach. *Cancer* 2005;103:1439–1446. doi:10.1002/cncr.20966.
118. Siewert JR, Böttcher K, Stein HJ, et al. Relevant prognostic factors in gastric cancer: ten-year results of the German Gastric Cancer Study. *Ann. Surg.* 1998;228:449–461.
119. Ichikura T, Ogawa T, Kawabata T, et al. Is Adenocarcinoma of the Gastric Cardia a Distinct Entity Independent of Subcardial Carcinoma? *World J. Surg.* 2003;27:334–338. doi:10.1007/s00268-002-6776-8.
120. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, et al. Gastric Adenocarcinoma. *Ann Surg* 2005;241:27–39. doi:10.1097/01.sla.0000149300.28588.23.
121. Qiu M, Cai M, Zhang D, et al. Clinicopathological characteristics and prognostic analysis of Lauren classification in gastric adenocarcinoma in China. *J Transl Med* 2013;11:58. doi:10.1186/1479-5876-11-58.
122. Hyung WJ, Lee JH, Choi SH, et al. Prognostic impact of lymphatic and/or blood vessel invasion in patients with node-negative advanced gastric cancer. *Ann. Surg. Oncol.* 2002;9:562–567.

123. Medina-Franco H, Heslin MJ, Cortes-Gonzalez R. Clinicopathological characteristics of gastric carcinoma in young and elderly patients: a comparative study. *Ann. Surg. Oncol.* 2000;7:515–519.
124. Huang K-H, Chen J-H, Wu C-W, et al. Factors affecting recurrence in node-negative advanced gastric cancer. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2009;24:1522–1526. doi:10.1111/j.1440-1746.2009.05844.x.
125. Mizukami Y, Kono K, Kawaguchi Y, et al. Localisation pattern of Foxp3+ regulatory T cells is associated with clinical behaviour in gastric cancer. *Br. J. Cancer* 2008;98:148–153. doi:10.1038/sj.bjc.6604149.
126. Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann. Oncol.* 2008;19:1523–1529. doi:10.1093/annonc/mdn169.
127. Tanner M, Hollmén M, Junttila TT, et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase II α gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005;16:273–278. doi:10.1093/annonc/mdi064.
128. Boysen T, Mohammadi M, Melbye M, et al. EBV-associated gastric carcinoma in high- and low-incidence areas for nasopharyngeal carcinoma. *Br. J. Cancer* 2009;101:530–533. doi:10.1038/sj.bjc.6605168.
129. Chang M-S, Uozaki H, Chong J-M, et al. CpG island methylation status in gastric carcinoma with and without infection of Epstein-Barr virus. *Clin. Cancer Res.* 2006;12:2995–3002. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-1601.
130. Zhao J, Jin H, Cheung KF, et al. Zinc finger E-box binding factor 1 plays a central role in regulating Epstein-Barr virus (EBV) latent-lytic switch and acts as a therapeutic target in EBV-associated gastric cancer. *Cancer* 2012;118:924–936. doi:10.1002/cncr.26184.
131. Lee J-H, Kim S-H, Han S-H, et al. Clinicopathological and molecular characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a meta-analysis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2009;24:354–365. doi:10.1111/j.1440-1746.2009.05775.x.
132. Murphy G, Pfeiffer R, Camargo MC, et al. Meta-analysis shows that prevalence of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer differs based on sex and anatomic location. *Gastroenterology* 2009;137:824–833. doi:10.1053/j.gastro.2009.05.001.

133. Kusano M, Toyota M, Suzuki H, et al. Genetic, epigenetic, and clinicopathologic features of gastric carcinomas with the CpG island methylator phenotype and an association with Epstein-Barr virus. *Cancer* 2006;106:1467–1479. doi:10.1002/cncr.21789.
134. Xu G, Shen J, Yang XO, et al. Cancer stem cells: the “heartbeat” of gastric cancer. *J Gastroenterol* 2013;48:781–797. doi:10.1007/s00535-012-0712-y.
135. Stojnev S, Krstic M, Ristic-Petrovic A, et al. Gastric cancer stem cells: therapeutic targets. *Gastric Cancer* 2014;17:13–25. doi:10.1007/s10120-013-0254-x.
136. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.* 1997;3:730–737.
137. Takaishi S, Okumura T, Wang TC. Gastric Cancer Stem Cells. *JCO* 2008;26:2876–2882. doi:10.1200/JCO.2007.15.2603.
138. Vescovi AL, Galli R, Reynolds BA. Brain tumour stem cells. *Nat. Rev. Cancer* 2006;6:425–436. doi:10.1038/nrc1889.
139. Vargo-Gogola T, Rosen JM. Modelling breast cancer: one size does not fit all. *Nat. Rev. Cancer* 2007;7:659–672. doi:10.1038/nrc2193.
140. Goodell MA, Rosenzweig M, Kim H, et al. Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD34 antigen exist in multiple species. *Nat. Med.* 1997;3:1337–1345.
141. Okano H. Stem cell biology of the central nervous system. *J. Neurosci. Res.* 2002;69:698–707. doi:10.1002/jnr.10343.
142. Qiao XT, Ziel JW, McKimpson W, et al. Prospective identification of a multilineage progenitor in murine stomach epithelium. *Gastroenterology* 2007;133:1989–1998. doi:10.1053/j.gastro.2007.09.031.
143. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003;100:3983–3988. doi:10.1073/pnas.0530291100.
144. Ritchie KE, Nör JE. Perivascular stem cell niche in head and neck cancer. *Cancer Lett.* 2013;338:41–46. doi:10.1016/j.canlet.2012.07.025.

145. Li Y, Kong D, Ahmad A, et al. Pancreatic cancer stem cells: emerging target for designing novel therapy. *Cancer Lett.* 2013;338:94–100. doi:10.1016/j.canlet.2012.03.018.
146. Lee TKW, Cheung VCH, Ng IOL. Liver tumor-initiating cells as a therapeutic target for hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett.* 2013;338:101–109. doi:10.1016/j.canlet.2012.05.001.
147. La Porta C. Cancer stem cells: lessons from melanoma. *Stem Cell Rev* 2009;5:61–65. doi:10.1007/s12015-008-9048-7.
148. Qiao XT, Gumucio DL. Current molecular markers for gastric progenitor cells and gastric cancer stem cells. *J Gastroenterol* 2011;46:855–865. doi:10.1007/s00535-011-0413-y.
149. Bjercknes M, Cheng H. Multipotential stem cells in adult mouse gastric epithelium. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2002;283:G767–777. doi:10.1152/ajpgi.00415.2001.
150. Quante M, Marrache F, Goldenring JR, et al. TFF2 mRNA transcript expression marks a gland progenitor cell of the gastric oxyntic mucosa. *Gastroenterology* 2010;139:2018–2027.e2. doi:10.1053/j.gastro.2010.08.003.
151. Goldenring JR, Nam KT, Mills JC. The origin of pre-neoplastic metaplasia in the stomach: chief cells emerge from the Mist. *Exp. Cell Res.* 2011;317:2759–2764. doi:10.1016/j.yexcr.2011.08.017.
152. Fukamachi H, Shimada S, Ito K, et al. CD133 is a marker of gland-forming cells in gastric tumors and Sox17 is involved in its regulation. *Cancer Science* 2011;102:1313–1321. doi:10.1111/j.1349-7006.2011.01947.x.
153. Arnold K, Sarkar A, Yram MA, et al. Sox2(+) adult stem and progenitor cells are important for tissue regeneration and survival of mice. *Cell Stem Cell* 2011;9:317–329. doi:10.1016/j.stem.2011.09.001.
154. Sakamoto H, Mutoh H, Miura Y, et al. SOX9 Is Highly Expressed in Nonampullary Duodenal Adenoma and Adenocarcinoma in Humans. *Gut Liver* 2013;7:513–518. doi:10.5009/gnl.2013.7.5.513.
155. Reinisch C, Kandutsch S, Uthman A, et al. BMI-1: a protein expressed in stem cells, specialized cells and tumors of the gastrointestinal tract. *Histol. Histopathol.* 2006;21:1143–1149.

156. Al-Marzoqee FY, Khoder G, Al-Awadhi H, et al. Upregulation and inhibition of the nuclear translocation of Oct4 during multistep gastric carcinogenesis. *Int. J. Oncol.* 2012;41:1733–1743. doi:10.3892/ijo.2012.1608.
157. Kuang R-G, Kuang Y, Luo Q-F, et al. Expression and significance of Musashi-1 in gastric cancer and precancerous lesions. *World J Gastroenterol* 2013;19:6637–6644. doi:10.3748/wjg.v19.i39.6637.
158. Varon C, Dubus P, Mazurier F, et al. Helicobacter pylori infection recruits bone marrow-derived cells that participate in gastric preneoplasia in mice. *Gastroenterology* 2012;142:281–291. doi:10.1053/j.gastro.2011.10.036.
159. Giannakis M, Chen SL, Karam SM, et al. Helicobacter pylori evolution during progression from chronic atrophic gastritis to gastric cancer and its impact on gastric stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008;105:4358–4363. doi:10.1073/pnas.0800668105.
160. Uehara T, Ma D, Yao Y, et al. H. pylori Infection Is Associated with DNA Damage of Lgr5-Positive Epithelial Stem Cells in the Stomach of Patients with Gastric Cancer. *Dig Dis Sci* 2013;58:140–149. doi:10.1007/s10620-012-2360-8.
161. Carpentino JE, Hynes MJ, Appelman HD, et al. Aldehyde dehydrogenase-expressing colon stem cells contribute to tumorigenesis in the transition from colitis to cancer. *Cancer Res.* 2009;69:8208–8215. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-1132.
162. Zhang C, Li C, He F, et al. Identification of CD44+CD24+ gastric cancer stem cells. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 2011;137:1679–1686. doi:10.1007/s00432-011-1038-5.
163. Han M-E, Jeon T-Y, Hwang S-H, et al. Cancer spheres from gastric cancer patients provide an ideal model system for cancer stem cell research. *Cell. Mol. Life Sci.* 2011;68:3589–3605. doi:10.1007/s00018-011-0672-z.
164. Jiang Y, He Y, Li H, et al. Expressions of putative cancer stem cell markers ABCB1, ABCG2, and CD133 are correlated with the degree of differentiation of. *Gastric Cancer* 2012;15:440–450. doi:10.1007/s10120-012-0140-y.
165. Ohkuma M, Haraguchi N, Ishii H, et al. Absence of CD71 transferrin receptor characterizes human gastric adenocarcinoma stem cells. *Ann. Surg. Oncol.* 2012;19:1357–1364. doi:10.1245/s10434-011-1739-7.

166. Chen T, Yang K, Yu J, et al. Identification and expansion of cancer stem cells in tumor tissues and peripheral blood derived from gastric adenocarcinoma patients. *Cell Res* 2012;22:248–258. doi:10.1038/cr.2011.109.
167. Sugihara E, Saya H. Complexity of cancer stem cells. *International Journal of Cancer* 2013;132:1249–1259. doi:10.1002/ijc.27961.
168. Haynes BF, Telen MJ, Hale LP, et al. CD44--a molecule involved in leukocyte adherence and T-cell activation. *Immunol. Today* 1989;10:423–428. doi:10.1016/0167-5699(89)90040-6.
169. Nagano O, Saya H. Mechanism and biological significance of CD44 cleavage. *Cancer Sci.* 2004;95:930–935.
170. Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, et al. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 1990;61:1303–1313.
171. Jang BI, Li Y, Graham DY, et al. The Role of CD44 in the Pathogenesis, Diagnosis, and Therapy of Gastric Cancer. *Gut and Liver* 2011;5:397. doi:10.5009/gnl.2011.5.4.397.
172. Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, et al. Highly purified CD44+ prostate cancer cells from xenograft human tumors are enriched in tumorigenic and metastatic progenitor cells. *Oncogene* 2006;25:1696–1708. doi:10.1038/sj.onc.1209327.
173. Collins AT, Berry PA, Hyde C, et al. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res.* 2005;65:10946–10951. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-2018.
174. Dalerba P, Dylla SJ, Park I-K, et al. Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2007;104:10158–10163. doi:10.1073/pnas.0703478104.
175. Du L, Wang H, He L, et al. CD44 is of functional importance for colorectal cancer stem cells. *Clin. Cancer Res.* 2008;14:6751–6760. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1034.
176. Chen S, Hou J-H, Feng X-Y, et al. Clinicopathologic Significance of Putative Stem Cell Marker, CD44 and CD133, in Human Gastric Carcinoma. *Journal of Surgical Oncology* 2013;107:799–806. doi:10.1002/jso.23337.
177. Dhingra S, Feng W, Brown RE, et al. Clinicopathologic significance of putative stem cell markers, CD44 and nestin, in gastric adenocarcinoma. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 2011;4:733.

178. Arıcı S. Mide adenokarsinomlarında CD44 ve Ki67 ekspresyonu (klinikopatolojik parametrelerle korelasyon). 2006.
179. Sagrinati C, Netti GS, Mazzinghi B, et al. Isolation and characterization of multipotent progenitor cells from the Bowman's capsule of adult human kidneys. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006;17:2443–2456. doi:10.1681/ASN.2006010089.
180. Kordes C, Sawitza I, Müller-Marbach A, et al. CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007;352:410–417. doi:10.1016/j.bbrc.2006.11.029.
181. Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007;445:111–115. doi:10.1038/nature05384.
182. Zhao P, Li Y, Lu Y. Aberrant expression of CD133 protein correlates with Ki-67 expression and is a prognostic marker in gastric adenocarcinoma. *BMC Cancer* 2010;10:218. doi:10.1186/1471-2407-10-218.
183. Hashimoto K, Aoyagi K, Isobe T, et al. Expression of CD133 in the cytoplasm is associated with cancer progression and poor prognosis in gastric cancer. *Gastric Cancer* 2014;17:97–106. doi:10.1007/s10120-013-0255-9.
184. Lee HH, Seo KJ, An CH, et al. CD133 expression is correlated with chemoresistance and early recurrence of gastric cancer. *Journal of Surgical Oncology* 2012;106:999–1004. doi:10.1002/jso.23178.
185. Maeda S, Shinchi H, Kurahara H, et al. CD133 expression is correlated with lymph node metastasis and vascular endothelial growth factor-C expression in pancreatic cancer. *Br. J. Cancer* 2008;98:1389–1397. doi:10.1038/sj.bjc.6604307.
186. Song W, Li H, Tao K, et al. Expression and clinical significance of the stem cell marker CD133 in hepatocellular carcinoma. *Int. J. Clin. Pract.* 2008;62:1212–1218. doi:10.1111/j.1742-1241.2008.01777.x.
187. Koppaka V, Thompson DC, Chen Y, et al. Aldehyde Dehydrogenase Inhibitors: a Comprehensive Review of the Pharmacology, Mechanism of Action, Substrate Specificity, and Clinical Application. *Pharmacol Rev* 2012;64:520–539. doi:10.1124/pr.111.005538.

188. Deng S, Yang X, Lassus H, et al. Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers. *PLoS ONE* 2010;5:e10277. doi:10.1371/journal.pone.0010277.
189. Keymoosi H, Gheyntanhi E, Asgari M, et al. ALDH1 in combination with CD44 as putative cancer stem cell markers are correlated with poor prognosis in urothelial carcinoma of the urinary bladder. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014;15:2013–2020.
190. Katsuno Y, Ehata S, Yashiro M, et al. Coordinated expression of REG4 and aldehyde dehydrogenase 1 regulating tumourigenic capacity of diffuse-type gastric carcinoma-initiating cells is inhibited by TGF- β : REG4 in ALDH1+ gastric cancer cells. *The Journal of Pathology* 2012;228:391–404. doi:10.1002/path.4020.
191. Krupkova O, Loja T, Zambo I, et al. Nestin expression in human tumors and tumor cell lines. *Neoplasma* 2010;57:291–298.
192. Frisén J, Johansson CB, Török C, et al. Rapid, widespread, and longlasting induction of nestin contributes to the generation of glial scar tissue after CNS injury. *J. Cell Biol.* 1995;131:453–464.
193. Kawamoto M, Ishiwata T, Cho K, et al. Nestin expression correlates with nerve and retroperitoneal tissue invasion in pancreatic cancer. *Hum. Pathol.* 2009;40:189–198. doi:10.1016/j.humpath.2008.02.022.
194. Kleeberger W, Bova GS, Nielsen ME, et al. Roles for the stem cell associated intermediate filament Nestin in prostate cancer migration and metastasis. *Cancer Res.* 2007;67:9199–9206. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-0806.
195. Liu C, Chen B, Zhu J, et al. Clinical implications for nestin protein expression in breast cancer. *Cancer Sci.* 2010;101:815–819. doi:10.1111/j.1349-7006.2009.01422.x.
196. Dahlrot RH, Hermansen SK, Hansen S, et al. What is the clinical value of cancer stem cell markers in gliomas? *Int J Clin Exp Pathol* 2013;6:334–348.
197. Thill M, Berna MJ, Grierson R, et al. Expression of CD133 and other putative stem cell markers in uveal melanoma. *Melanoma Res.* 2011;21:405–416. doi:10.1097/CMR.0b013e328348db10.
198. Good P, Yoda A, Sakakibara S, et al. The human Musashi homolog 1 (MSI1) gene encoding the homologue of Musashi/Nrp-1, a neural RNA-binding

protein putatively expressed in CNS stem cells and neural progenitor cells. *Genomics* 1998;52:382–384.

199. Goidts V, Nakata S, Phillips E. Emerging role for leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptors LGR5 and LGR4 in cancer stem cells. *Cancer Management and Research* 2014:171. doi:10.2147/CMAR.S57846.
200. Van der Flier LG, Sabates-Bellver J, Oving I, et al. The Intestinal Wnt/TCF Signature. *Gastroenterology* 2007;132:628–632. doi:10.1053/j.gastro.2006.08.039.
201. Yamamoto Y, Sakamoto M, Fujii G, et al. Overexpression of orphan G-protein-coupled receptor, Gpr49, in human hepatocellular carcinomas with beta-catenin mutations. *Hepatology* 2003;37:528–533. doi:10.1053/jhep.2003.50029.
202. De Lau W, Barker N, Low TY, et al. Lgr5 homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signalling. *Nature* 2011;476:293–297. doi:10.1038/nature10337.
203. Jaks V, Barker N, Kasper M, et al. Lgr5 marks cycling, yet long-lived, hair follicle stem cells. *Nat. Genet.* 2008;40:1291–1299. doi:10.1038/ng.239.
204. Barker N, Rookmaaker MB, Kujala P, et al. Lgr5(+ve) stem/progenitor cells contribute to nephron formation during kidney development. *Cell Rep* 2012;2:540–552. doi:10.1016/j.celrep.2012.08.018.
205. Plaks V, Brenot A, Lawson DA, et al. Lgr5-expressing cells are sufficient and necessary for postnatal mammary gland organogenesis. *Cell Rep* 2013;3:70–78. doi:10.1016/j.celrep.2012.12.017.
206. Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature* 2009;459:262–265. doi:10.1038/nature07935.
207. Barker N, van de Wetering M, Clevers H. The intestinal stem cell. *Genes Dev.* 2008;22:1856–1864. doi:10.1101/gad.1674008.
208. Quante M, Bhagat G, Abrams JA, et al. Bile acid and inflammation activate gastric cardia stem cells in a mouse model of Barrett-like metaplasia. *Cancer Cell* 2012;21:36–51. doi:10.1016/j.ccr.2011.12.004.

209. McClanahan T, Koseoglu S, Smith K, et al. Identification of overexpression of orphan G protein-coupled receptor GPR49 in human colon and ovarian primary tumors. *Cancer Biol. Ther.* 2006;5:419–426.
210. Takahashi H, Ishii H, Nishida N, et al. Significance of Lgr5(+ve) cancer stem cells in the colon and rectum. *Ann. Surg. Oncol.* 2011;18:1166–1174. doi:10.1245/s10434-010-1373-9.
211. Becker vd. - 2010 - Lgr5, an intestinal stem cell marker, is abnormall.pdf.
212. Tanese K, Fukuma M, Yamada T, et al. G-protein-coupled receptor GPR49 is up-regulated in basal cell carcinoma and promotes cell proliferation and tumor formation. *Am. J. Pathol.* 2008;173:835–843. doi:10.2353/ajpath.2008.071091.
213. Ryuge S, Sato Y, Jiang S-X, et al. The clinicopathological significance of Lgr5 expression in lung adenocarcinoma. *Lung Cancer* 2013;82:143–148. doi:10.1016/j.lungcan.2013.06.010.
214. Eramo A, Lotti F, Sette G, et al. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell Death Differ.* 2008;15:504–514. doi:10.1038/sj.cdd.4402283.
215. Lee CJ, Dosch J, Simeone DM. Pancreatic cancer stem cells. *J. Clin. Oncol.* 2008;26:2806–2812. doi:10.1200/JCO.2008.16.6702.
216. Nusse R, Fuerer C, Ching W, et al. Wnt signaling and stem cell control. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2008;73:59–66. doi:10.1101/sqb.2008.73.035.
217. Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005;434:843–850. doi:10.1038/nature03319.
218. Malanchi I, Peinado H, Kassen D, et al. Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on beta-catenin signalling. *Nature* 2008;452:650–653. doi:10.1038/nature06835.
219. Oshima H, Matsunaga A, Fujimura T, et al. Carcinogenesis in mouse stomach by simultaneous activation of the Wnt signaling and prostaglandin E2 pathway. *Gastroenterology* 2006;131:1086–1095. doi:10.1053/j.gastro.2006.07.014.
220. Ishimoto T, Oshima H, Oshima M, et al. CD44+ slow-cycling tumor cell expansion is triggered by cooperative actions of Wnt and prostaglandin E2

- in gastric tumorigenesis. *Cancer Sci.* 2010;101:673–678. doi:10.1111/j.1349-7006.2009.01430.x.
221. Cai C, Zhu X. The Wnt/ β -catenin pathway regulates self-renewal of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *Mol Med Rep* 2012;5:1191–1196. doi:10.3892/mmr.2012.802.
 222. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, et al. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2010.
 223. Merchant JL. Hedgehog signalling in gut development, physiology and cancer. *J. Physiol. (Lond.)* 2012;590:421–432. doi:10.1113/jphysiol.2011.220681.
 224. Van den Brink GR, Hardwick JC, Tytgat GN, et al. Sonic hedgehog regulates gastric gland morphogenesis in man and mouse. *Gastroenterology* 2001;121:317–328.
 225. Ohta M, Tateishi K, Kanai F, et al. p53-Independent negative regulation of p21/cyclin-dependent kinase-interacting protein 1 by the sonic hedgehog-glioma-associated oncogene 1 pathway in gastric carcinoma cells. *Cancer Res.* 2005;65:10822–10829. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-0777.
 226. Fukaya M, Isohata N, Ohta H, et al. Hedgehog signal activation in gastric pit cell and in diffuse-type gastric cancer. *Gastroenterology* 2006;131:14–29. doi:10.1053/j.gastro.2006.05.008.
 227. Lee S-Y, Han HS, Lee KY, et al. Sonic hedgehog expression in gastric cancer and gastric adenoma. *Oncol. Rep.* 2007;17:1051–1055.
 228. Song Z, Yue W, Wei B, et al. Sonic hedgehog pathway is essential for maintenance of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *PLoS ONE* 2011;6:e17687. doi:10.1371/journal.pone.0017687.
 229. Katoh M, Katoh M. Notch signaling in gastrointestinal tract (review). *Int. J. Oncol.* 2007;30:247–251.
 230. Kim T-H, Shivdasani RA. Notch signaling in stomach epithelial stem cell homeostasis. *J. Exp. Med.* 2011;208:677–688. doi:10.1084/jem.20101737.
 231. Yeh T-S, Wu C-W, Hsu K-W, et al. The activated Notch1 signal pathway is associated with gastric cancer progression through cyclooxygenase-2. *Cancer Res.* 2009;69:5039–5048. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-4021.

232. Tseng Y-C, Tsai Y-H, Tseng M-J, et al. Notch2-induced COX-2 expression enhancing gastric cancer progression. *Mol. Carcinog.* 2012;51:939–951. doi:10.1002/mc.20865.
233. Hsu K-W, Hsieh R-H, Huang K-H, et al. Activation of the Notch1/STAT3/Twist signaling axis promotes gastric cancer progression. *Carcinogenesis* 2012;33:1459–1467. doi:10.1093/carcin/bgs165.
234. Ma L, Mao R, Shen K, et al. Atractylenolide I-mediated Notch pathway inhibition attenuates gastric cancer stem cell traits. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014;450:353–359. doi:10.1016/j.bbrc.2014.05.110.
235. Shinohara M, Mao M, Keeley TM, et al. Bone morphogenetic protein signaling regulates gastric epithelial cell development and proliferation in mice. *Gastroenterology* 2010;139:2050–2060.e2. doi:10.1053/j.gastro.2010.08.052.
236. Wen X-Z, Akiyama Y, Baylin SB, et al. Frequent epigenetic silencing of the bone morphogenetic protein 2 gene through methylation in gastric carcinomas. *Oncogene* 2006;25:2666–2673. doi:10.1038/sj.onc.1209297.
237. Park Y, Kang MH, Seo HY, et al. Bone morphogenetic protein-2 levels are elevated in the patients with gastric cancer and correlate with disease progression. *Med. Oncol.* 2010;27:1192–1199. doi:10.1007/s12032-009-9358-x.
238. Zhang J, Ge Y, Sun L, et al. Effect of bone morphogenetic protein-2 on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells. *Int J Med Sci* 2012;9:184–192. doi:10.7150/ijms.3859.
239. Aoki M, Ishigami S, Uenosono Y, et al. Expression of BMP-7 in human gastric cancer and its clinical significance. *Br. J. Cancer* 2011;104:714–718. doi:10.1038/sj.bjc.6606075.
240. Scoville DH, Sato T, He XC, et al. Current view: intestinal stem cells and signaling. *Gastroenterology* 2008;134:849–864. doi:10.1053/j.gastro.2008.01.079.
241. Guo X, Oshima H, Kitmura T, et al. Stromal fibroblasts activated by tumor cells promote angiogenesis in mouse gastric cancer. *J. Biol. Chem.* 2008;283:19864–19871. doi:10.1074/jbc.M800798200.
242. Worthley DL, Ruszkiewicz A, Davies R, et al. Human gastrointestinal neoplasia-associated myofibroblasts can develop from bone marrow-derived

- cells following allogeneic stem cell transplantation. *Stem Cells* 2009;27:1463–1468. doi:10.1002/stem.63.
243. Quante M, Tu SP, Tomita H, et al. Bone marrow-derived myofibroblasts contribute to the mesenchymal stem cell niche and promote tumor growth. *Cancer Cell* 2011;19:257–272. doi:10.1016/j.ccr.2011.01.020.
 244. Liu L, Ning X, Han S, et al. [Hypoxia induced HIF-1 accumulation and VEGF expression in gastric epithelial mucosa cell: involvement of ERK1/2 and PI3K/Akt]. *Mol. Biol. (Mosk.)* 2008;42:459–469.
 245. Kato Y, Yashiro M, Fuyuhiko Y, et al. Effects of acute and chronic hypoxia on the radiosensitivity of gastric and esophageal cancer cells. *Anticancer Res.* 2011;31:3369–3375.
 246. Zhao Y, Bao Q, Renner A, et al. Cancer stem cells and angiogenesis. *Int. J. Dev. Biol.* 2011;55:477–482. doi:10.1387/ijdb.103225yz.
 247. Suzuki S, Dobashi Y, Hatakeyama Y, et al. Clinicopathological significance of platelet-derived growth factor (PDGF)-B and vascular endothelial growth factor-A expression, PDGF receptor- β phosphorylation, and microvessel density in gastric cancer. *BMC Cancer* 2010;10:659. doi:10.1186/1471-2407-10-659.
 248. Ping Y-F, Bian X-W. Concise review: Contribution of cancer stem cells to neovascularization. *Stem Cells* 2011;29:888–894. doi:10.1002/stem.650.
 249. Yao X, Ping Y, Bian X. Contribution of cancer stem cells to tumor vasculogenic mimicry. *Protein Cell* 2011;2:266–272. doi:10.1007/s13238-011-1041-2.
 250. Li M, Gu Y, Zhang Z, et al. Vasculogenic mimicry: a new prognostic sign of gastric adenocarcinoma. *Pathol. Oncol. Res.* 2010;16:259–266. doi:10.1007/s12253-009-9220-7.
 251. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 2011;144:646–674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.
 252. Winkquist RJ, Boucher DM, Wood M, et al. Targeting cancer stem cells for more effective therapies: Taking out cancer's locomotive engine. *Biochem. Pharmacol.* 2009;78:326–334. doi:10.1016/j.bcp.2009.03.020.
 253. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma, an attempt at a histoclinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965;64:31–49.

254. Tang LH, Berlin J, Branton P, et al. Protocol for the Examination of Specimens from Patients with Carcinoma of the Stomach. 2013. Available at: http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2014/Stomach_14Protocol_3300.pdf.
255. Wu C, Xie Y, Gao F, et al. Lgr5 expression as stem cell marker in human gastric gland and its relatedness with other putative cancer stem cell markers. *Gene* 2013;525:18–25. doi:10.1016/j.gene.2013.04.067.
256. Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2004;51:1–28. doi:10.1016/j.critrevonc.2004.04.007.
257. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001;414:105–111. doi:10.1038/35102167.
258. Clarke MF, Fuller M. Stem Cells and Cancer: Two Faces of Eve. *Cell* 2006;124:1111–1115. doi:10.1016/j.cell.2006.03.011.
259. Wang T, Ong CW, Shi J, et al. Sequential expression of putative stem cell markers in gastric carcinogenesis. *British Journal of Cancer* 2011;105:658–665. doi:10.1038/bjc.2011.287.
260. Fukuda K, Saikawa Y, Ohashi M, et al. Tumor initiating potential of side population cells in human gastric cancer. *Int. J. Oncol.* 2009;34:1201–1207.
261. Rocco A, Liguori E, Pirozzi G, et al. CD133 and CD44 Cell surface markers do not identify cancer stem cells in primary human gastric tumors. *Journal of Cellular Physiology* 2012;227:2686–2693. doi:10.1002/jcp.23013.
262. Schauer M, Peiper M, Theisen J, et al. Prognostic factors in patients with diffuse type gastric cancer (linitis plastica) after operative treatment. *European Journal of Medical Research* 2011;16:29. doi:10.1186/2047-783X-16-1-29.
263. Matsumura Y, Tarin D. Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. *Lancet* 1992;340:1053–1058.
264. Terpe A, Franke F, Stark H, et al. [Occurrence of CD44 and its isoforms under orthological and pathological conditions]. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1993;77:276–281.
265. Jung WY, Kang Y, Lee H, et al. Expression of moesin and CD44 is associated with poor prognosis in gastric adenocarcinoma. *Histopathology* 2013;63:474–481. doi:10.1111/his.12202.

266. Chen Y, Fu Z, Xu S, et al. The prognostic value of CD44 expression in gastric cancer: A meta-Analysis. *Biomed. Pharmacother.* 2014. doi:10.1016/j.biopha.2014.08.001.
267. Merika EE, Syrigos KN, Saif MW. Desmoplasia in Pancreatic Cancer. Can We Fight It? *Gastroenterology Research and Practice* 2012;2012:1–10. doi:10.1155/2012/781765.
268. Sanaat Z, Halimi M, Ghojzadeh M, et al. Immunohistochemical Analysis of p53, Ki-67, CD44, HER-2/neu Expression Patterns in Gastric Cancer, and Their Association with One Year Survival in North-West of Iran. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2013;7:15–20.
269. Jiang F, Qiu Q, Khanna A, et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell-associated marker in lung cancer. *Mol. Cancer Res.* 2009;7:330–338. doi:10.1158/1541-7786.MCR-08-0393.
270. Kang EJ, Jung H, Woo OH, et al. Association of aldehyde dehydrogenase 1 expression and biologically aggressive features in breast cancer. *Neoplasma* 2014;61:352–362.
271. Hwang C-C, Nieh S, Lai C-H, et al. A Retrospective Review of the Prognostic Value of ALDH-1, Bmi-1 and Nanog Stem Cell Markers in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *PLoS ONE* 2014;9:e105676. doi:10.1371/journal.pone.0105676.
272. Barker N, van Es JH, Kuipers J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature* 2007;449:1003–1007. doi:10.1038/nature06196.
273. Fan X-S, Wu H-Y, Yu H-P, et al. Expression of Lgr5 in human colorectal carcinogenesis and its potential correlation with β -catenin. *International Journal of Colorectal Disease* 2010;25:583–590. doi:10.1007/s00384-010-0903-z.
274. Takeda K, Kinoshita I, Shimizu Y, et al. Expression of LGR5, an Intestinal Stem Cell Marker, During Each Stage of Colorectal Tumorigenesis. *Anticancer Res* 2011;31:263–270.
275. Wu X-S, Xi H-Q, Chen L. Lgr5 is a potential marker of colorectal carcinoma stem cells that correlates with patient survival. *World J Surg Oncol* 2012;10:244. doi:10.1186/1477-7819-10-244.

276. Liu Z, Dai W, Jiang L, et al. Over-expression of LGR5 correlates with poor survival of colon cancer in mice as well as in patients. *Neoplasma* 2014;61:177–185. doi:10.4149/neo_2014_016.
277. Nakata S, Campos B, Bageritz J, et al. LGR5 is a marker of poor prognosis in glioblastoma and is required for survival of brain cancer stem-like cells. *Brain Pathol.* 2013;23:60–72. doi:10.1111/j.1750-3639.2012.00618.x.
278. Jang BG, Lee BL, Kim WH. Distribution of LGR5+ Cells and Associated Implications during the Early Stage of Gastric Tumorigenesis. *PLoS ONE* 2013;8:e82390. doi:10.1371/journal.pone.0082390.
279. Zheng Z-X. Intestinal stem cell marker LGR5 expression during gastric carcinogenesis. *World Journal of Gastroenterology* 2013;19:8714. doi:10.3748/wjg.v19.i46.8714.
280. Yan KS, Chia LA, Li X, et al. The intestinal stem cell markers Bmi1 and Lgr5 identify two functionally distinct populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012;109:466–471. doi:10.1073/pnas.1118857109.