

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI**

**PEPTİK ÜLSER NEDENİYLE
BILLROTH II TİPİ DİSTAL GASTREKTOMİ GEÇİREN HASTALARDA
MİDE MUKOZASINDA VE PERİFERİK KAN LENFOSİTLERİNDE
TELOMER UZUNLUĞU**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
DR. Müge USTAOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet BEKTAŞ**

SAMSUN - 2009

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI**

**PEPTİK ÜLSER NEDENİYLE
BILLROTH II TİPİ DİSTAL GASTREKTOMİ GEÇİREN HASTALARDA
MİDE MUKOZASINDA VE PERİFERİK KAN LENFOSİTLERİNDE
TELOMER UZUNLUĞU**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
DR. Müge USTAOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet BEKTAŞ**

SAMSUN - 2009

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TABLolar	III
ŞEKİLLER	IV
KISALTMALAR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mide GÜdüğü Karsinogenezi ve Alkalen Reflü Gastrit	3
2.1.1. Mide GÜdüğü Karsinogenezi	3
2.1.2. Alkalen Reflü Gastrit	5
2.1.2.1. Tanım	5
2.1.2.2. Etyoloji	6
2.1.2.3. Klinik	6
2.1.2.4. Tanı	7
2.1.2.5. Tedavi	8
2.2. Telomer	8
2.2.1. Tanım	8
2.2.2. Replikasyon Sonu Problemi	10
2.2.3. Telomerlerin Yapısı	11
2.2.4. Telomer Devamlılığını Sağlayan Mekanizmalar	12
2.2.4.1. Telomeraz	12
2.2.4.2. Alternatif Telomer Uzatılması	13
2.2.5. Replikatif Yaşlanma ve Hücre Ölümsüzlüğü	14
2.2.6. Telomer Uzunluğu Ölçüm Yöntemleri	15
2.2.7. Telomer ve Karsinogenez	16
2.2.7.1. Kanserde Telomer Uzunluğu ve Telomer Uzunluğunun Korunması	17
3. GEREÇ-YÖNTEM	19
3.1. Hasta Seçimi	19
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	20

3.3. Kullanılan Kimyasallar	21
3.4. Lenfosit ve Dokuların Elde Edilmesi	21
3.4.1. Lenfositlerden DNA İzolasyonu	21
3.4.2. Dokulardan DNA İzolasyonu	21
3.5. Kantitatif Real-Time PCR Metodunun Uygulanması	22
3.5.1. Telomer Primerlerinin Belirlenmesi	22
3.5.2. Standartların Hazırlanması	22
3.5.3. Numunelerde Beta Globin PCR Çalışılması	22
3.5.4. Numunelerde Telomer PCR Çalışılması	23
3.5.5. Karşılaştırmalı C _T Metodu ile Relatif Kantitasyonun Yapılması	23
3.5.5.1. Numunelerin Normalizasyonu	23
3.5.5.2. Numunelerin Relatif T/S Oranlarının Bulunması	24
3.5.6. Telomer Standartı Kullanarak Numunelerin Kantitasyonu	24
3.6. Sonuçların İstatistiksel Analizi	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	32
6. KAYNAKLAR	39

TABLO LİSTESİ

		Sayfa
Tablo I	Alkalen Reflü Gastritte Medikal Tedavi	8
Tablo II	Telomerlerin Fonksiyonları	9
Tablo III	Çalışmaya Dahil Etme Kriterleri	19
Tablo IV	Çalışmadan Çıkarma-Hariç Tutma ve Çalışmaya Son Verme Kriterleri	19
Tablo V	Çalışma Gruplarının Demografik Özellikleri	25
Tablo VI	Çalışma Gruplarının Mide Mukoza Örneklerinde ve Lenfositlerinde Telomer Uzunlukları	25
Tablo VII	Çalışma Gruplarında Mide Mukoza Örneklerinde Sydney Sınıflamasına Göre Histopatolojik Tanılar	26
Tablo VIII	Sydney Sınıflamasına Göre Histopatolojik Tanıların Varlığı ile Mide Mukoza Örneklerinde Telomer Uzunluğu Arasındaki İlişki	27
Tablo IX	Çalışma Gruplarında Sydney Sınıflamasına Göre Histopatolojik Tanılar ile Mide Mukoza Örneklerinde Telomer Uzunluğu Arasındaki İlişki	28
Tablo X	Yaş ile Telomer Uzunlukları Arasındaki İlişki	30

ŞEKİL LİSTESİ

		Sayfa
Şekil 1	Telomerlerin yapısı	10
Şekil 2	Telomerdeki replikasyon sonu problemi	11
Şekil 3	Telomerin t-loop ve d-loop yapısı	12
Şekil 4	Telomeraz enzim kompleksi	13
Şekil 5	Hücrel yaşlanma ve ölümsüzlük	15
Şekil 6	Telomerlerde fonksiyon kaybı ve tümörogenezis	18
Şekil 7	Hasta grubunda ameliyattan sonra geçen süre ile mide mukoza örneklerinde telomer uzunluğu arasındaki ilişki	39
Şekil 8	Çalışma gruplarında yaş ile mide mukoza örneklerinde telomer uzunluğu arasındaki ilişki	30
Şekil 9	Çalışma gruplarında yaş ile periferik kan lenfositlerinde telomer uzunluğu arasındaki ilişki	32

KISALTMALAR

ALT	Alternative lengthening of telomeres
ARG	Alkalen reflü gastrit
Bç	Bazçifti
DGR	Duodenogastrik reflü
D-loop	Displacement loop
DNA	Deoksiribonükleik asit
EBV	Ebstein-Barr virüsü
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
FISH	Floresan in situ hybridization
GIS	Gastrointestinal sistem
HBSS	Hank's balanced salt solution
H.pylori	Helikobakter pylori
M1	Mortality stage 1
M2	Mortality stage 2
POT1	Protection of telomeres 1
PBS	Phosphate buffered saline
Rap1	Repressor/activator protein
RNA	Ribonükleik asit
Q-PCR	Quantitative - Polimerase chain reaction
SB	Southern blot
TER	Telomeraz RNA
TERT	Telomeraz ters transkriptaz
TIN2	TRF-Interacting nuclear factor 2
TPP	(TINT/PTOP/PIP) POT1 ile etkileşen protein
TRAP	Telomere repeat amplification protocol
TRF1	Telomere repeat binding factor 1
TRF2	Telomere repeat binding factor 2
T-loop	Telomer loop

ÖZET

Amaç: Telomerler kromozomların bütünlüğünün korunmasında rol alırlar. Telomerlerde fonksiyon kaybı, genomik instabiliteye neden olarak kanser gelişme riskini artırır. Çeşitli prekanseröz lezyonda telomer uzunluk anormallikleri bildirilmiştir. Literatürde mide güdük kanseri gelişmesinde önemli bir risk faktörü kabul edilen Billroth II tipi distal gastrektomide telomer uzunluğunun değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda peptik ülser nedeniyle Billroth II tipi distal gastrektomi geçiren hastalarda kalan mide dokusunda ve periferik kan lenfositlerinde telomer uzunluğunun diğer klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini değerlendirmek amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya peptik ülser nedeniyle Billroth II tipi distal gastrektomi geçiren alkalen reflü gastrit tanılı 15 hasta, yaş ve cinsiyet yönünden benzer daha önce mide ameliyatı olmamış 15 kontrol olgusu alındı. Çalışmaya alınan olguların hepsine üst gastrointestinal sistem endoskopisi ve alınan mide biyopsilerinden Sydney sınıflamasına göre histopatolojik değerlendirme yapıldı. Telomer uzunluğu periferik kan lenfositlerinde ve mide mukozasında kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (q-PCR) yöntemi kullanılarak ölçüldü.

Bulgular: Çalışmaya alınan hastaların yaş ortalaması hasta grubunda 61.5 ± 6.5 yıl (49-75), kontrol grubunda 61.5 ± 6.4 yıl (49-75) idi ($p > 0.05$). Mide mukoza örneklerinde ortalama telomer uzunluğu hasta grubunda 14972.0 ± 8122.9 baz çifti (bç), kontrol grubunda ise 11266.0 ± 3466.4 bç olup, hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla telomerler daha uzundu. Periferik kan lenfositlerinde ortalama telomer uzunluğu ise hasta ve kontrol grubunda sırayla 10728.7 ± 6595.0 bç ve 13238.0 ± 5051.5 bç idi. Hasta grubunda ameliyattan sonra geçen süre arttıkça mide mukoza örneklerinde telomerlerin kısaldığı görüldü ($r = -0.126$) ($p > 0.05$). Çalışma gruplarında Sydney sınıflamasına göre histopatolojik tanıların varlığı yönünden fark bulunmadı. Mide mukoza örneklerinde ortalama telomer uzunluğu kronik inflamasyon, nötrofil aktivitesi, glandüler atrofi, intestinal metaplazi ve H.pylori olanlarda sırayla 11883.8 ± 5264.8 bç, 12029.4 ± 7795.5 bç, 10351.4 ± 6236.7 bç, 12185.5 ± 6386.1 bç, 11597.7 ± 6784.9 bç idi, olmayanlarda ise sırayla 21147.5 ± 8256.8 , 14543.8 ± 3830.6 , 14986.0 ± 6392.9 , 13961.3 ± 6366.4 , 14282.35 ± 6069.7 bç idi. Yaş ile mide mukoza örneklerinde telomer uzunluğu arasında

hasta grubunda pozitif ilişki ($r=+0.189$), kontrol grubunda ise negatif ilişki ($r=-0.280$) bulundu, ancak bu ilişkiler istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Sonuç: Telomer uzunluk anormallikleri karsinogenezin çok aşamalı sürecinde en erken ortaya çıkan genetik değişikliklerden biridir. Çalışmamızda peptik ülser nedeniyle Billroth II tipi distal gastrektomi geçiren hastalarda, kalan mide dokusunda telomer uzunluk anormallikleri değerlendirildi ve hasta grubunda kontrol grubuna göre mide mukoza örneklerinde telomerler daha uzun bulundu. Periferik kan lenfositlerinde telomerler hasta grubunda kontrol grubuna göre daha kısaydı. Ameliyat sonrası süre uzadıkça mide mukoza örneklerinde telomer uzunluğu azalmaktaydı. Kronik inflamasyon, nötrofil aktivitesi, intestinal metaplazi, glandüler atrofi ve H.pylori varlığında telomerler daha kısa bulundu. Bu bulgular gastrik güdük karsinogenezisinde telomer uzunluk anormalliklerinin, gastrik güdük kanserlerinin erken tanısında ve tedavisinde yol gösterici olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Billroth II tipi gastrektomi, telomer uzunluğu, q-PCR

ABSTRACT

Purpose: Telomere have an important role in maintaining chromosomal integrity. Functional loss of telomeres increases the risk of cancer by causing genomic instability. Telomere length abnormalities have been reported in several precancerous lesions. There is no study that evaluates telomere length in Billroth II type distal gastrectomy known as a risk factor for gastric stump carcinogenesis, in the literature. The aim of this study is to assess the relationship between the telomere length of residual gastric mucosal samples, peripheral blood lymphocytes and the other clinicopathologic parameters of the patients undergone Billroth II type distal gastrectomy.

Material-method: A total of 30 cases were included in this study; 15 with alkaline reflux gastritis after Billroth II type distal gastrectomy and 15 control cases who were alike in age, gender and have never undergone stomach surgery. In all cases, upper gastrointestinal endoscopy was performed, biopsies were taken during endoscopy and evaluated for histological examination according to Sydney classification. Telomere lengths of peripheral blood lymphocytes and gastric mucosal samples were measured by quantitative real time polymerase chain reaction (q-PCR).

Results: The mean age was 61.5 ± 6.5 years (49-75) in the patient group and 61.5 ± 6.4 years (49-75) in the control group ($p > 0.05$). The mean telomere length of gastric mucosa samples in the patient group was 14972.0 ± 8122.9 base pair (bp) and 11266.0 ± 3466.4 bp in the control group. The mean telomere length of peripheral blood lymphocytes was 10728.7 ± 6595.0 bp 13238.0 ± 5051.5 bp in patient group and control group respectively. It was observed that the length of telomeres was shortened as the time of postoperative period increases in the patient group ($r = -0.126$) ($p > 0.05$). There was no difference between the histopathological diagnosis of study groups according to the Sydney classification. The mean telomere lengths of gastric mucosa samples were 11883.8 ± 5264.8 bp in chronic inflammation, 12029.4 ± 7795.5 bp in neutrophil activity, 10351.4 ± 6236.7 bp in glandular atrophy, 12185.5 ± 6386.1 bp in intestinal metaplasia, 11597.7 ± 6784.9 in H.pylori infection and without these diagnosis 21147.5 ± 8256.8 bp, 14543.8 ± 3830.6 bp, 14986.0 ± 6392.9 bp, 13961.3 ± 6366.4 bp, 14282.35 ± 6069.7 bp respectively. It was observed that the lengths of telomeres were shortened in all of these histopathological diagnosis. We also studied the correlation between the age and length

of gastric mucosa samples in all of the cases and recognized a positive correlation ($r=+0.189$) in the patient group and an inverse correlation ($r=-0.280$) in the control subjects, but these correlations were not statistically significant.

Conclusion: Telomere length abnormality is one of the earliest genetic alterations occurs in the multistep process of carcinogenesis. In our study, telomere length abnormalities in patients undergone Billroth II type distal gastrectomy due to peptic ulcer were evaluated and it was found that the telomeres of gastric mucosa samples in the patient group were longer than that of the control group. The telomere lengths of peripheral lymphocytes were shorter in the patient group than that of the control group. The telomere length was shortened as the time of postoperative period increases in the patient group. The telomeres were also shorter in chronic inflammation, neutrophil activity, intestinal metaplasia, glandular atrophy and H.pylori infection in all of the study groups. Telomere length abnormalities in gastric stump carcinogenesis process may be a guide for early diagnosis and treatment.

Key words: Billroth II type gastrectomy, telomere length, q-PCR

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda peptik ülser hastalığının fizyopatolojisinin daha iyi anlaşılması ve etkili medikal tedavilerin geliştirilmesiyle tedavide parsiyel gastrektomi uygulaması belirgin olarak azalmıştır. Ancak komplike peptik ülser hastalığının tedavisinde az da olsa cerrahi tedaviye gerek duyulmaktadır. Peptik ülser nedeniyle parsiyel gastrektomi geçirmiş hastalarda, kalan mide dokusunda kanser gelişme riskinin arttığı bilinmektedir. Bu risk, Billroth II tipi distal gastrektomilerde Billroth I tipi distal gastrektomilere göre daha yüksektir (1). Ancak; peptik ülser cerrahisi sonrası, kalan midede kanser gelişme riskinin neden arttığı henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bu konu ile ilgili; asit ve gastrin salgısında azalma, duodenogastrik reflü (DGR), Helikobakter pylori (H.pylori) ve bakteriyel aşırı çoğalma gibi birçok hipotez öne sürülmüştür ancak en çok suçlanan faktör DGR'dir (1, 2). Artmış kanser riskinin, direkt olarak DGR ile ilişkili olduğu, safra ve pankreatik sıvıların mide mukozasında kronik inflamasyona yol açarak kanser gelişimini arttırdığı düşünülmektedir.

Kromozomların uç kısımlarında yer alan, tekrarlayıcı deoksiribonükleik asit (DNA) dizilerinden oluşan yapılara 'telomer' adı verilir. Normal şartlarda kromozomların uç kısımları telomerler aracılığıyla korunmaktadır. Kritik olarak kısalan telomerler fonksiyonlarını kaybederler. Telomerlerde fonksiyon kaybı genomik instabiliteye neden olur (3). Telomeraz telomerlerin kısalmasını önleyen ribonükleoprotein yapıda bir enzimdir. Normalde somatik hücrelerde sınırlı sayıda bölünme gerçekleşir ve telomeraz aktivitesi bulunmaz; ancak deri, periferik kan ve endometrium gibi mitotik olarak aktif olan hücrelerde düşük düzeyde telomeraz aktivitesi saptanmıştır (4). Telomeraz-knockout farelerde kanser insidansının arttığı bildirilmiştir. Kanser hücrelerinde %85 oranında telomeraz aktivitesi olduğu gösterilmiştir (5, 6).

Karsinogenez çok aşamalı bir süreçtir. Telomer uzunluğundaki değişiklikler bu süreçte en erken ve en sık ortaya çıkan değişikliklerden biridir (5). Telomer uzunluğunun ölçülmesinde birçok yöntem geliştirilmiştir. Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (q-PCR), hızlı ve basit bir telomer uzunluğu ölçüm metodudur (7).

Biz; çalışmamızda, peptik ülser nedeniyle Billroth II tipi distal gastrektomi geçirmiş alkalin reflü gastrit (ARG) tanılı hastalarda, periferik kandan elde edilen

lenfositlerde ve mide mukoza örneklerinde q-PCR yöntemini kullanarak ortalama telomer uzunluğunu hesapladık ve telomer uzunluğunun diğer klinikopatolojik parametreler ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. Literatürde peptik ülser nedeniyle Billroth II tipi distal gastrektomi geçiren hasta popülasyonunda telomer uzunluğunun değerlendirildiği bir çalışmaya rastlamadık. Gastrik güdük karsinogenezisi sürecinde telomer uzunluk anormallikleri, gastrik güdük kanserlerinin erken tanısında ve tedavisinde yol gösterici olabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mide Gdg Karsinogenezi ve Alkalefl Gastrit

2.1.1. Mide Gdg Karsinogenezi

Benign hastalık veya mide kanseri nedeniyle uygulanan distal mide rezeksiyonundan 5 yıl sonra mide gdgnde ortaya çıkan kanserlere ‘Mide güdük kanserleri’ adı verilir (2, 8). Mide güdük kanseri ilk olarak 1920’li yılların başlarında Balfour tarafından tanımlanmıştır (9).

Mide güdük kanserleri tüm gastrik kanserlerin %1.1-7’sini oluşturur. Erkeklerde kadınlardan yaklaşık olarak 4-9 kat daha sık görülmektedir. Mide güdük kanseri gelişmesinde en önemli faktörlerden biri rezeksiyondan sonra geçen süredir. Rezeksiyon ile mide güdük kanseri tanısı arasındaki süre değişken olmakla beraber ortalama 20-27 yıldır. Rezeksiyondan sonra geçen süre arttıkça mide güdük kanseri insidansı artmaktadır. Mide güdük kanseri gelişme riskinin, cerrahiden en az 20 yıl sonra 4-7 kat arttığı bildirilmiştir (2). Mide güdük kanseri insidansının; Billroth II tipi distal gastrektomi sonrası, Billroth I tipi distal gastrektomiye kıyasla dört kat arttığı bildirilmiştir (1). En yüksek artışım Billroth II tipi distal gastrektomi uygulanan erkek hastalarda cerrahiden 25 yıl sonra olduğu rapor edilmiştir (10). En düşük riskin ise; Roux-Y rekonstrüksiyonu sonrası olduğu bildirilmiştir (2).

Benign hastalık nedeniyle yapılan cerrahi sonrası ortaya çıkan mide güdük kanserleri ile malign hastalık nedeniyle uygulanan cerrahi sonrası ortaya çıkan mide güdük kanserlerinin gelişme mekanizmalarının farklı olduğu düşünülmektedir (2). Matsui ve arkadaşlarının yayımladığı bir çalışmada; benign hastalık nedeniyle uygulanan cerrahi sonrası gelişen mide güdük kanserlerinde Billroth II tipi distal gastrektomi sonrası DGR’nin kanser gelişimine neden olduğu bildirilmiştir (11).

Mide güdük kanseri etiyolojisinde ileri sürülen başlıca faktörler arasında hipoklorhidri, hipogastrinemi, bakteriyel aşırı oğalma, DGR sayılabilir, ancak en çok suçlanan faktör DGR’dir (1, 2). DGR sıklıkla mide cerrahisi (rn; gastrektomi veya piloroplasti) sonrası ortaya çıkmaktadır. Mide güdük kanserleri en sık, DGR’ye en çok maruz kalan anastomoz hattı komşuluğunda ortaya çıkmaktadır (1, 12).

Duodenogastrik reflünün hangi bileşeninin kalan mide mukozasında hasardan sorumlu olduğu halen bilinmemektedir, ancak üzerinde en çok durulan safra asitleridir. Normal şartlarda, primer safra asitleri (kolik ve kenodeoksikolik) karaciğerde kolesterolden sentezlenir. Primer safra asitleri barsakta bakteriler tarafından sekonder safra asitlerine (deoksikolik ve litokolik) dönüştürülür. Sekonder safra asitlerinin mide mukozasına zararlı etkisi primer safra asitlerinden fazladır (13). Safra asitleri epitel hücrelerini örten koruyucu mukus tabakasında değişikliğe neden olur. Mide mukoza bariyerinin hasarı safra asitlerinin mide mukozasındaki zararlı etkisinde esas mekanizmadır, böylece potansiyel karsinojenler mukozal bariyere kolayca penetre olurlar. Mukozayı koruyucu faktörlerde azalma da mide güdük kanseri gelişmesine katkıda bulunur. İntramukozal sinir sistemi bu koruyucu faktörlerin kontrolünde önemli rol oynar. Gastrektomi sonrası antrumda üretilen ve mukoza için trofik etkisi olan gastrin gibi hormonların azalması mukozal atrofiye yol açar. Cerrahi sırasında uygulanan trunkal vagotomi kanser gelişme riskini artırır (2). Vagotomi uygulanan hastalarda hipoasidite ve mide stazı görülür. Mide boşalmasındaki gecikmenin bir başka deyişle mide stazının da DGR ve alkalen reflü gastriti ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Mide stazı, zararlı mide ve duodenum sekresyonlarının mide mukozasıyla uzun süre temas etmesine olanak sağlar (14). Ayrıca duodenal sekresyonların mideye reflüsü sonucu mide pH'sı yükselir ve böylece mikroorganizmaların çoğalması için uygun bir ortam meydana gelir (15). Mide lümeninde çoğalan bakteriler primer ve sekonder safra asitlerini dekonjuge edebilirler. Dekonjuge safra asitleri konjuge safra asitlerine göre daha toksiktir (16).

Kronik DGR, kalan midede kronik gastrit, atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi ve adenom gibi çeşitli histolojik değişikliklere neden olur. Atrofik gastrit, hipoklorhidriye ve mide sıvısının pH'sında yükselmeye neden olur, böylece kalan mide güdüğünde bakteri çoğalması için uygun bir ortam meydana gelir (2). Normalde mide içeriği sterildir, fakat mideye duodenal sıvının reflüsü ve midede asit sekresyonunun azalması, bakteriyel kolonizasyona sebep olabilir. DGR miktarı, mide pH'sı ve bakteriyel kolonizasyonun derecesi birbirleri ile ilişkili faktörlerdir. Billroth II anastomozlu hastalarda Billroth I anastomozlu hastalara göre mide sıvısında pH'ın, nitrit seviyesinin ve bakteri sayısının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (1). Çoğalan bakterilerin birçoğu (özellikle anaerob bakteriler) nitrat sitrat redüktaz içerir ve diyetle

alınan nitratları nitritlere indirgerler. Nitritler sekonder aminlerle birleşerek karsinojenik etkisi bulunan nitrozaminleri (veya N-nitroso bileşikleri) oluştururlar (17). Bu azotlu bileşiklerin mide kanserine neden olduğu bilinmektedir.

H.pylori özellikle intestinal tip mide kanserinin gelişiminde karsinojen bir bakteridir. H.pylori'nin mide güdük kanseri gelişimindeki rolü, primer mide kanseri gelişimindeki rolünden farklılık gösterir. Safra reflüsü ile midede meydana gelen alkali pH, H.pylori'nin kolonizasyonu için uygunsuz bir ortam meydana getirir (18). Ayrıca safra tuzlarının H.pylori üzerine bakterisidal etkisi vardır ve Billroth II rezeksiyonu sonrası H.pylori'nin hızla kaybolduğu bildirilmiştir (19). Mide güdük kanserlerinde H.pylori enfeksiyonu oranı, primer gastrik kanserdeki enfeksiyon oranına göre düşüktür. Mide güdük kanserlerinde enfeksiyon oranının düşük olmasının nedeni, DGR'nin H.pylori'nin gelişimini bozmasıdır. Ancak yapılan çalışmalarda H.pylori ve safra reflüsünün hücrel proliferasyonda, dolayısıyla mide güdük kanseri gelişiminde sinerjistik etki gösterdiği bildirilmiştir (20, 21).

Ebstein-Barr virüsü (EBV) çeşitli kanserlerin etyolojisinde rol alan bir DNA virüsüdür. Mide kanseri ile EBV arasında da onkojenik ilişki olduğu düşünülmektedir, fakat EBV'nin gastrik karsinogeneze nasıl katkıda bulunduğu hala bilinmemektedir. Ancak EBV gibi DNA virüslerinin wild-tip p53 proteini ile etkileşime girerek p53'ün tümör supresör etkisini inaktive ettiği bilinmektedir (22). Yapılan çalışmalarda mide güdük kanserlerinde EBV ile enfeksiyon oranı konvansiyonel kansere göre daha yüksek bulunmuştur (8).

2.1.2. Alkalen Reflü Gastrit

2.1.2.1. Tanım

Gastritis, mide mukozasının inflamasyonudur. Bugüne kadar gastritislerin sınıflandırılmasında çeşitli sınıflama sistemleri kullanılmıştır, ancak günümüzde en çok kabul gören 'Sydney sınıflama sistemi'dir. Bu sınıflama sistemi içerisinde yer alan 'Alkalen reflü gastrit', alkali özellikteki duodenal içeriğin (safra, pankreas ve ince barsak sekresyonları) mideye reflüsü sonucu mide mukozasında meydana gelen kimyasal zedelenme olarak tanımlanır (23).

Duodenogastrik reflü ve gastritis 1940'lı yıllarda tanımlanmış olmasına rağmen, 'Reflü gastriti' terimi ilk kez 1962 yılında DuPlessis tarafından kullanılmıştır (24).

'Alkalem reflü gastrit' terimi ise 1969 yılında Van Heerden ve arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır (25). ARG ayrıca 'reaktif gastrit', 'kimyasal gastrit' ve 'tip C gastrit' olarak da adlandırılır.

2.1.2.2. Etyoloji

Duodenal içeriğin mideye reflüsünü engelleyen en önemli bariyer pilor sfinkteridir. DGR primer ve sekonder nedenlere bağlı olarak gelişebilir. Primer DGR antroduodenal motilite bozukluğundan, sekonder DGR ise gastroduodenal anatominin cerrahi sonrası değişmesi ile veya biliyer patolojiler sonucu meydana gelir.

Son yıllarda, peptik ülser hastalığının cerrahi tedavisi, hastalığın fizyopatolojisinin daha iyi anlaşılması ve etkili medikal tedavi seçeneklerinin geliştirilmesiyle seyrek olarak uygulanmaktadır. Ancak cerrahi tedavi, komplike peptik ülser hastalığının tedavisinde hala önemini korumaktadır. Pilor sfinkterinin çıkarıldığı, bozulduğu veya bypass edildiği bu cerrahi girişimlerden sonra çeşitli komplikasyonlar görülebilir. Bu komplikasyonlara 'Postgastrektomi Sendromları' adı verilir. ARG sık görülen postgastrektomi sendromlarından biridir. Mide ameliyatlarından sonra ARG görülme sıklığı %5-15 arasında değişmektedir (26). Boren ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada mide ameliyatlarından sonra mideye safra reflüsü oranının %100'e ulaştığını bildirmiştir (27). Farklı yayınlarda Billroth II gastrojejunostomi sonrası ARG insidansının %40-79 arasında değiştiği bildirilmektedir (15).

2.1.2.3. Klinik

Semptomlar mide rezeksiyonundan aylar, hatta yıllar sonra görülebilir (16). Bir çalışmada hastaların %54'ünde mide cerrahisinden 1 ila 3 yıl sonra semptomların görüldüğü bildirilmiştir (15). Epigastrik bölgede yanıcı tarzda karın ağrısı, bulantı, safralı kusma ve kilo kaybı tipik ARG semptomları arasında sayılabilir. Karın ağrısı sürekli olup sıklıkla yemek sonrası ve yatar pozisyonda (örneğin geceleri) artar ve tipik olarak antasitleri ve H2 reseptör antagonistleri ile hafiflemez (13). Hastaların hemen hemen hepsinde epigastrik bölgede ağrı ve safralı kusma görülür, bu semptomların yokluğunda ARG tanısında şüpheye düşmek gerekir. Kilo kaybı ve demir eksikliği anemisi daha az sıklıkta görülen bulgulardandır.

2.1.2.4. Tanı

Alkalin reflü gastritis tanısı aslında dışlama esasına ve büyük oranda hastanın semptomlarına dayanır. Benzer semptomlara neden olabilecek tekrarlayan ülserler, safra kesesi, ekstrahepatik safra yolları veya pankreatik hastalıklar, postoperatif gastroparezis, efferent loop obstrüksiyonu ve kronik afferent loop sendromu gibi postgastrektomi sendromları ekarte edilmelidir (13).

Hastanın değerlendirilmesinde ilk adım üst gastrointestinal sistem (GİS) endoskopisidir. Üst GİS endoskopide mide, gastrointestinal anastomoz hattı, afferent ve efferent looplar incelenir. Mide mukozasında safra göllenmesi olması veya üst GİS endoskopisi sırasında enterogastrik reflünün görülmesi tanı için destekleyici bulgulardır. Ek olarak; kalan mide mukozasında, aşırı miktardaki enterogastrik reflünün spesifik endoskopik bulguları olduğu düşünülen hiperemi, ödem ve frajilitenin yaygınlığı değerlendirilir ve işlem sırasında kalan mide mukozasından ARG için karakteristik olduğu düşünülen histolojik değişikliklerin değerlendirilmesi amacıyla çok sayıda biyopsi alınabilir (13). Histolojik olarak çeşitli karakteristik değişiklikler görülebilir. Bu değişiklikler arasında; parietal ve esas hücrelerde azalma, musin-sekrete eden hücrelerde artma, süperfisiyel mukozada ülserasyon ve atrofik değişiklikler, mukozal mast hücre sayısında azalma, submukozada kronik inflamatuvar hücre (özellikle lenfosit), lamina propriada ödem, foveolar hiperplazi, glandüler kistik dilatasyon ve vasküler konjesyon birikimi sayılabilir (16).

Baryumlu üst GİS incelemesi postoperatif anatomi, stoma açıklığı, kalan mide boşunun büyüklüğü ve afferent loopta dilatasyon olup olmadığı hakkında yararlı bilgiler verebilir.

Hepatobiliyer sistem sintigrafisi enterogastrik reflüyü gösteren noninvaziv bir yöntemdir. Hastaya radyoizotoplarla işaretlenmiş bileşikler intravenöz yolla verilir ve mide lojunda ortaya çıkan aktivite enterogastrik reflü lehine yorumlanır (13).

Alkali Bernstein testi tanı amaçlı kullanılan provokatif bir testtir. Nazogastrik tüp yoluyla mideye 20 ml 0.1 N HCl, 0.1 N NaOH veya normal serum fizyolojik verilir. Mideye NaOH infüzyonu sonrası hastada klasik semptomların ortaya çıkması halinde test pozitif kabul edilir (16).

2.1.2.5. Tedavi

Alkalem reflü gastritisinde tedavi, medikal ve cerrahi tedavi olmak üzere iki başlık altında incelenebilir. Medikal tedavi Tablo I’de özetlenmiştir (15, 16).

Tablo I. Alkalem Reflü Gastritte Medikal Tedavi

1. Mide mukozasını koruyucu ilaçlar
 - a. Antasitler ve H₂ reseptör antagonistleri
 - b. Proton pompa inhibitörleri
 - c. Sukralfat
 2. Safra asitlerini bağlayıcı ilaçlar
 - a. Alüminyum içeren antiasitler
 - b. Kolestiramin
 3. Promotilite ajanları
 - a. Metoklopramid/Domperidon
 - b. Sisaprid
 4. Reflü olan intestinal içeriğinin safra tuzu bileşimini değiştiren ilaçlar
 - a. Antibiyotikler
 - b. Ursodeoksikolik asit
-

Medikal tedavinin başarısız olduğu hastalarda cerrahi tedavi düşünülmelidir. Cerrahi tedavide amaç pankreatikobiliyer sekresyonların mideden uzaklaştırılmasıdır. Bu amaçla en sık uygulanan yöntemler Roux-en-Y gastrojejunostomisi ve Tanner prosedürüdür (Roux-19 gastrojejunostomisi). Daha az sıklıkta kullanılan cerrahi yöntemler ise; Henley jejunal interpozisyonu ve ‘duodenal switch’ ameliyatları ve suprapapiller duodenojejunostomidir (15).

2.2. Telomer

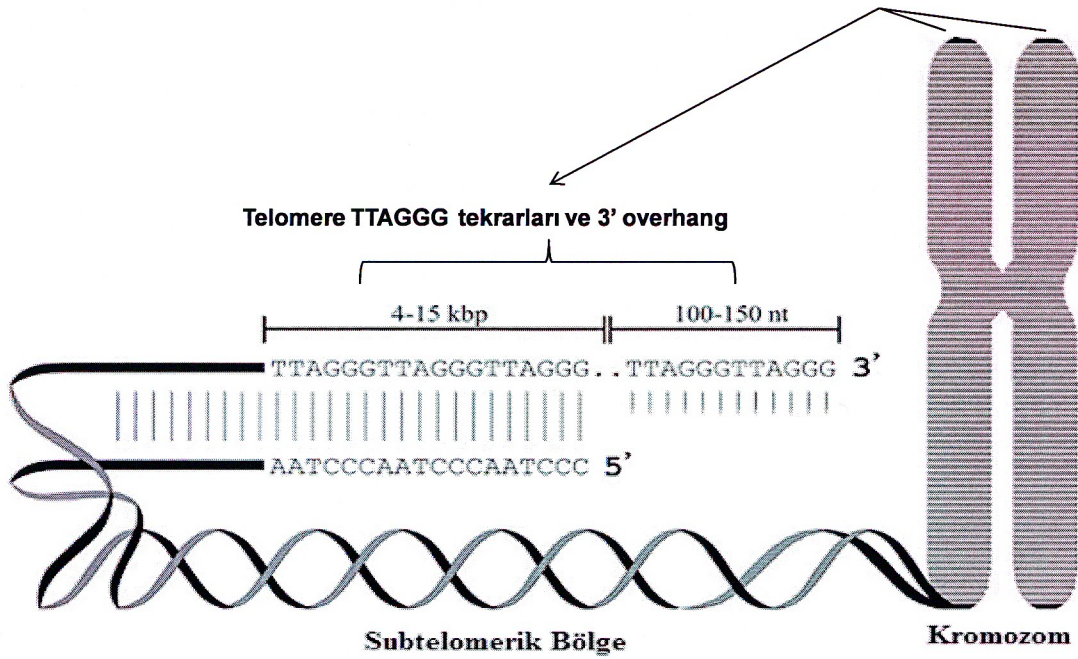
2.2.1. Tanım

Kromozom, deoksiribonükleik asitin (DNA) ‘histon’ adı verilen protein zinciri etrafına sarılmasıyla oluşan ve canlılarda kalıtımı sağlayan genetik birimdir. Kromozomların şekli, büyüklüğü ve sayısı her tür için farklıdır ve o tür için sabittir. Kromozomlar insanlarda lineer yapıdadır ve iki uç kısmı vardır. Kromozomların uç

kısımlarında bulunan guaninden zengin tekrarlayan dizilerden oluşan yapılara ‘telomer’ adı verilir. Telomer terimi, Yunanca ‘telos’ (son) ve ‘meros’ (kısım) kelimelerinden üretilmiştir (28). Telomerler, özelleşmiş DNA ve protein kompleksinden oluşur ve dinamik bir yapıya sahiptir. Telomerin DNA dizileri ve uzunluğu türler arasında farklılık gösterir. Telomer uzunluğu yaşa ve hücre tiplerine göre değişir, uzunluğu aynı hücrede bile farklılık gösterir (29). Telomerler herhangi bir genetik bilgi taşımazlar ancak çok sayıda temel biyolojik fonksiyonda rol oynarlar (Tablo II) (30, 31). İnsan telomerleri çeşitli telomer bağlantı proteinleri ile birbirine bağlanan uzun ve tekrarlanan TTAGGG alt birimlerinden oluşmaktadır (Şekil 1). İnsan telomerleri 3-20 kilobaz (kb) uzunluğundadır. Telomerler, her hücre bölünmesinde replikasyon sonu problemi nedeniyle yaklaşık 50-200 bazçifti (bç) kısalır (32, 33).

Tablo II: Telomerlerin Fonksiyonları

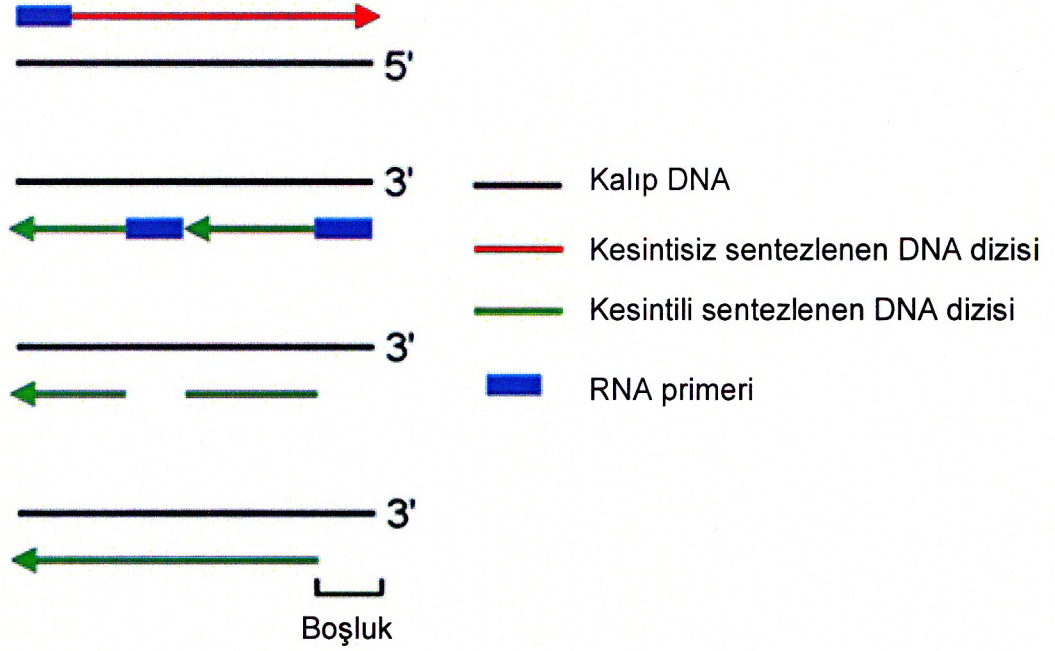
-
- Kromozomların birbirine dolaşmasını ve yapışmasını önleyerek kromozomların bütünlüğünü ve stabilitesini sağlar
 - Replikasyon sırasında DNA’nın son kısmının tamamlanmasında rol alır
 - Kromozomun son kısmını rekombinasyon, yıkım ve füzyon gibi anormal durumlara karşı korur
 - Hücrenin çoğalma kapasitesi üzerinde belirleyici bir biyolojik saattir
 - Kromozomların çekirdek zarına tutunarak belirli bir pozisyonu korumasını sağlar
-



Şekil 1: Telomerlerin yapısı (34)

2.2.2. Replikasyon Sonu Problemi

DNA replikasyonu sadece 5'-3' yönünde gerçekleşir. Replikasyon sırasında çift sarmal yapıdaki zincirler ayrılır ve DNA polimeraz ana molekülü kalıp olarak kullanarak bazları, 5'-3' yönünde eklemeye başlar. Replikasyon çatalı bir zincirde 5'-3' yönünde, diğer zincirde ise 3'-5' yönünde hareket eder. DNA polimerazın 5'-3' yönünde çalışması, DNA'nın birbirine zıt yönde paralel olan zincirlerinde aynı anda devamlı sentez edilmesini engeller. Bu nedenle DNA 5'-3' yönünde kesintisiz olarak sentezlenirken, 3'-5' yönünde kesintili olarak sentezlenir. Hem kesintili hem de kesintisiz sentezlenen dizide, polimerizasyonun başlaması için bir RNA primerine ihtiyaç vardır. Kesintisiz dizide bir tane primer yeterli iken, kesintili dizide ise her DNA parçası için bir primere ihtiyaç vardır. Kesintili sentezlenen dizideki DNA-primer yapının her birine 'Okazaki parçası' adı verilir. DNA ligaz bu parçaları birleştirir ve sentez devam eder. Ancak son Okazaki parçası ile DNA sonu arasındaki bölgeyi dolduracak parçanın sentezi için 3' ucunda DNA kalıbı yoktur. Bu nedenle kromozomun en uç kısmı replike olamaz ve telomer kısalır. Bu duruma 'replikasyon sonu problemi' denir (Şekil 2) (33). Her hücre bölünmesinde meydana gelen telomer kısalması 3' ucunda guaninden zengin çıkıntı (overhang) oluşumuna neden olur (35).

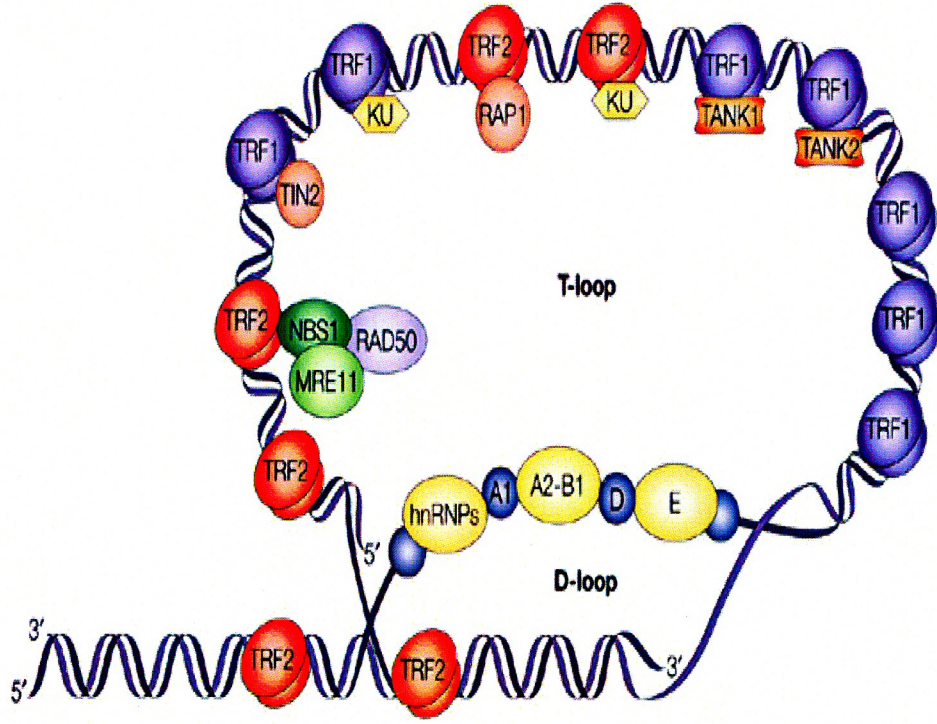


Şekil 2: Telomerdeki replikasyon sonu problemi (36)

2.2.3. Telomerlerin Yapısı

Her telomer en az 12 bç uzunluğunda ve guaninden zengin tek zincirli 3' çıkıntı ile sonlanır. Tek zincirli 3' çıkıntı, kendi üstüne kıvrılarak çift sarmal DNA'nın kendisi ile uyumlu bölgesine girer. Böylece dairesel bir yapı meydana gelir, bu yapıya 'telomer loop (t-loop)' adı verilir. T-loop yapısı oluşumu sırasında 3' çıkıntının çift sarmal DNA'ya girmesiyle sarmal açılır ve ikinci bir loop yapısı oluşur; bu yapıya da 'displacement loop (d-loop)' adı verilir (Şekil 3). T-loop yapısı ile kromozomun uç kısımları etkin olarak gizlenmiş olur. Böylece kromozom uçları DNA tamir mekanizmaları tarafından DNA kırığı olarak algılanmaz ve bu bölgeler uygunsuz DNA tamirinden korunmuş olur (37). Telomer bağlanan proteinler t-loop yapısının oluşumunda ve korunmasında rol alırlar. T-loop yapısının bozulması telomerin ksalmasına neden olur.

Spesifik olarak telomere bağlanan pek çok protein bulunur. Bu proteinler; TRF1 (Telomere Repeat Binding Factor 1), TRF2 (Telomere Repeat Binding Factor 2), Rap1 (Repressor/activator protein 1), TIN2 (TRF-Interacting Nuclear Factor 2), POT1 (Protection Of Telomeres 1), TANK1 ve TANK 2 (tankyrases), PTOP (POT1 and TIN2 organizing protein) 'tur. TRF1 ve TRF2 primer olarak t-loop'un oluşumundan ve korunmasından sorumludurlar (37).

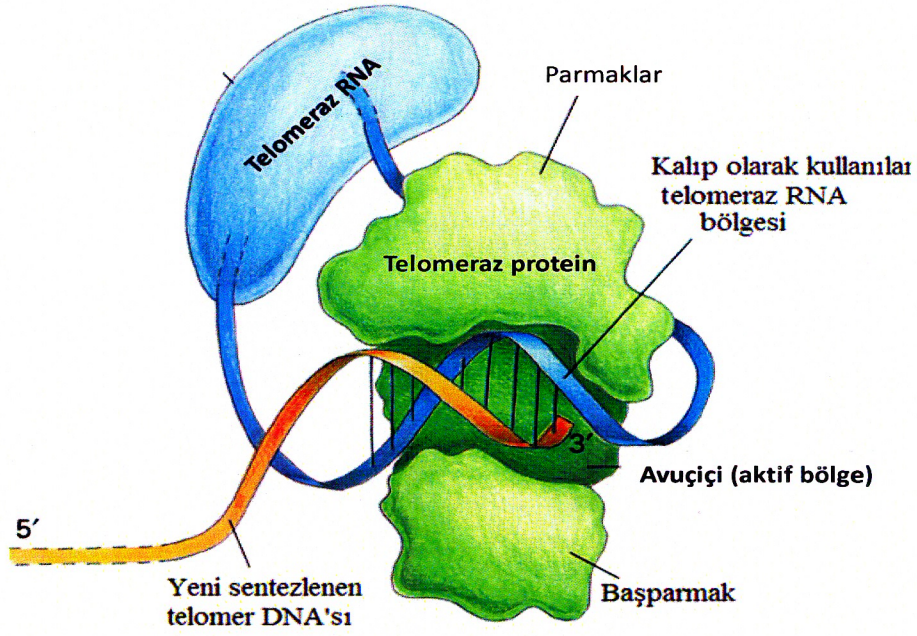


Şekil 3: Telomerin t-loop ve d-loop yapısı (38)

2.2.4. Telomer Devamlılığını Sağlayan Mekanizmalar

2.2.4.1. Telomeraz

Telomeraz, telomer terminal transferaz ve telomer deoksinükleotidil transferaz olarak da adlandırılan, bir ters transkriptaz enzimidir. Telomeraz ribonükleoprotein yapısında, RNA kalıbından DNA sentezleyen özel bir DNA polimerazdır. Bu enzimin katalitik subünit telomeraz reverse transkriptaz (TERT) ve kalıp görevi gören telomeraz RNA (TER) olmak üzere hem protein hem de RNA bileşeni vardır (39). Telomeraz enzim kompleksi yarı açık pozisyonda duran sağ elin iç kısmı görünümünde bir model ile tarif edilmiştir (Şekil 4) (40). Replikasyon sonu problemde telomeraz devreye girer ve reverse transkriptaz katalitik alt birimi, RNA alt birimini kalıp olarak kullanarak DNA'nın 5' ucuna TTAGGG telomerik tekrarları ekler (41). Böylece telomerlerin kılmasını önlenir ve hücrenin daha fazla bölünmesi sağlanır. Telomeraz tarafından kromozom uçlarına telomerik DNA eklenmesi; uç replikasyon problemine, nükleazların etkisine veya diğer potansiyel DNA hasarı yapan nedenlere karşı koruyucu rol oynar.



Şekil 4: Telomeraz enzim kompleksi (40)

Telomeraz enzim aktivitesi ilk olarak 1990'lı yılların ortalarında PCR temelli telomere-repeat amplification protocol (TRAP) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (42). Bu yöntem kullanılarak yapılan ilk çalışmalarda telomeraz enzim aktivitesi birçok kanser dokusunda ve ölümsüz hücre kültürlerinde saptanmış, fakat germ hücreleri dışında normal dokularda bulunamamıştır (42, 43). Daha sonra yapılan çalışmalarda telomeraz enzim aktivitesinin, hücre döngüsü yüksek olan normal hücrelerde, örneğin periferik kan, kord kanı ve kemik iliği lökositleri, epidermisin bazal tabakası, endometrium, koryonik villusta da olduğu saptanmıştır (4). Telomeraz enzim aktivitesi olan dokuların tümü sürekli yenilenen epitel veya düzenli sikluslar şeklinde proliferen dokulardır. Sindirim kanalı epitelinin proliferasyon yeteneği yaşam boyu devam etmesine rağmen, çalışmaların çoğunluğunda normal sindirim kanalı epitelinde enzim aktivitesi saptanamamıştır. Modifiye TRAP yöntemi ile, normal kolon mukozasında telomeraz aktivitesi gösterilmiştir (44) .

2.2.4.2. Alternatif Telomer Uzatılması

Telomeraz dışında, DNA rekombinasyonu ile yürütülen bazı alternatif telomer uzatma mekanizmaları (ALT) bulunmuştur. Bu mekanizmalardan başlıcaları;

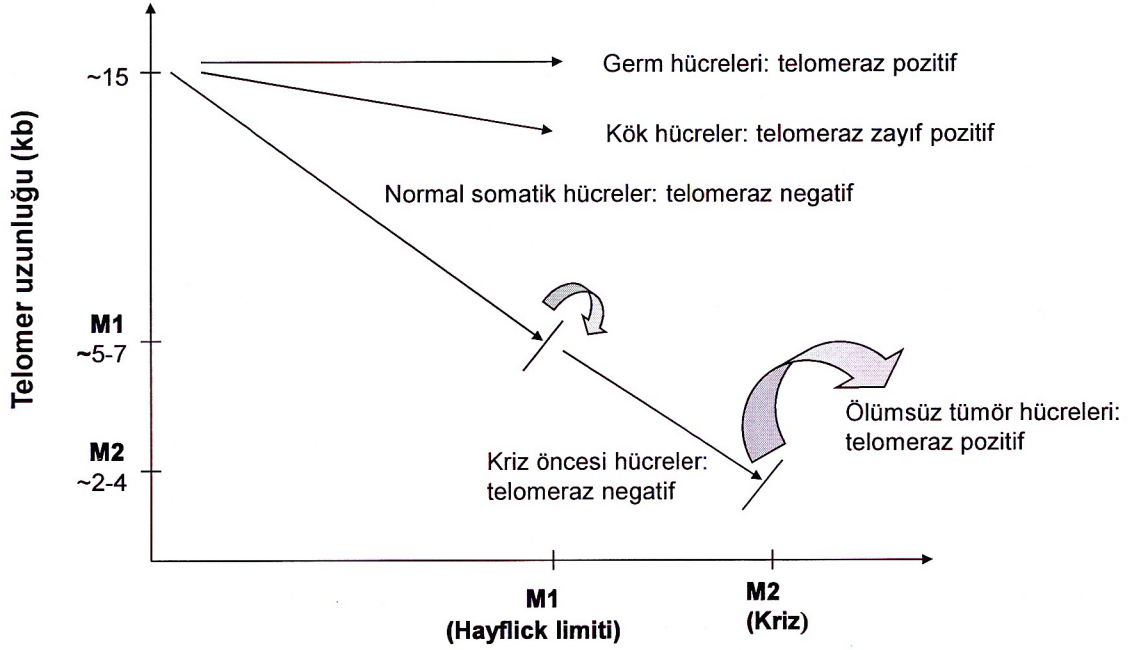
intertelomerik homolog rekombinasyon, t-loop rekombinasyon, rolling-circle uzatma ve ekstra-kromozomal telomerik tekrarların kullanıldığı uzatmadır (45). Telomerlerin uzatılmasında rol oynayan alternatif mekanizmalar henüz iyi bilinmemekle beraber, yeni yapılan çalışmalarla, bu işleyle ilgisi olduğu belirlenen protein sayısı artmaktadır. ALT aktivitesi olan hücrelerde telomer uzunlukları oldukça heterojendir. ALT mekanizmasının tümör dokusu ve tümör hücre kültürlerinin sadece %15'inde aktif olduğu ve çok hücreli canlılarda telomer uzatılması ve devamlılığının sağlanmasında yeterli olmadığı ileri sürülmüştür (46, 47). ALT'yi kullanan kanserler ve hücre kültürleri, normal mekanizmaları yok etmeye çalışır. Ancak bunun nasıl gerçekleştiği henüz bilinmemektedir. Normal hücrelerde, telomer uzunluk heterojenitesi özelliğindeki ALT yoktur. Bu nedenle ALT'nin akranı olan mekanizmaların, ALT ile aynı aktivite gösterdiği söylenemez. Zamanla, bu teorik süreç muhtemelen, 'normal ALT-like activity' olarak adlandırılacaktır (48).

2.2.5. Replikatif Yaşlanma ve Hücre Ölümsüzlüğü

Her bölünme sonrasında telomerler bir miktar kısalır. İlk olarak 1960'lı yıllarda insan fibroblastları ile yapılan doku kültür çalışmalarında hücrelerin belirli bir bölünme sayısından sonra artık bölünemedikleri gözlemlenmiştir. Bu replikatif yaşlanmanın hücre yaşlanması ile ilişkisi tanımlanmıştır. Normal somatik hücrelerde sınırlı sayıda bölünme gerçekleşir ve bu maksimum bölünme sayısı 'Hayflick Limiti' olarak bilinmektedir (49). 1970'li yıllarda, her DNA replikasyonunda tüm kromozomların sonlarında eksilme olduğu ve kritik bir eksilme noktasından sonra hücre ölümünün meydana geldiği gösterilmiştir (50).

Hücre Hayflick limiti ya da M1 (Mortality stage 1) olarak tanımlanan noktaya ulaştığında, hücrede geri dönüşümsüz olarak yaşlanma süreci başlamış olur. Ancak M1 noktasındaki bu hücreler metabolik aktivite yetenekleri devam eder. M1 hücre siklusu kontrol noktası, p53 gibi tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ile aşılabilir (51, 52). M1 kontrol noktasını aşabilen hücreler, ikinci bir kontrol noktası olan M2 (Mortality stage 2) noktasına kadar bölünmeye devam ederler ancak, bu durumda telomerler kromozom bütünlüğünü sağlayamayacak kadar kısalır. M2 kontrol noktası kriz noktasıdır, çünkü hücrelerin büyük çoğunluğu kritik düzeyde kısalmış telomerlere bağlı

olarak ölürler (Şekil 5) (7). Bu kriz noktası da telomer devamlılığını sağlayan telomeraz ve ALT ile aşılabılır, böylece bu hücreler artık ölümsüz hale gelirler (53).



Şekil 5. Telomer Uzunluğu-Hüresel yaşlanma ve ölümsüzlük ilişkisi (54)

2.2.6. Telomer Uzunluğu Ölçüm Yöntemleri (7)

- 1- Southern blot (SB)
- 2- Hybridization protection assay (HPA)
- 3- Fluorescent in situ hybridization (Q-FISH)
- 4- Flow cytometry - Fluorescent in situ hybridization (Flow-FISH)
- 5- Primed in situ (PRINS)
- 6- Quantitative - Polimerase chain reaction (Q-PCR)
- 7- Single telomere length analysis (STELA)

Kantitatif PCR yöntemi ile telomer uzunluğun ölçümü ilk kez Cawthon tarafından tanımlanmıştır (55). Hızlı ve basit bir yöntemdir. Bu yöntemde telomere spesifik primerler kullanılarak telomer tekrarlarının kopya sayısı ve bir tek kopya gen sayısı (single copy gen) hesaplanır. Telomer tekrarlarının kopya sayısı (T) tek kopya

gen sayısı (S) oranı hesaplanır. Bu oran (T/S), ortalama telomer uzunluğu ile orantılıdır ve rölatif telomer uzunluğu hesaplanır. Q-PCR yöntemi ile telomer uzunluğu ölçümü, sıklıkla kullanılan SB ve FISH yöntemleri ile kıyaslandığında daha doğru sonuç verir, çünkü q-PCR yönteminde ölçülen telomer uzunluğuna, bireyler arası uzunluk farklılığı gösteren subtelomerik bölge dahil değildir (7).

2.2.7. Telomer ve Karsinogenez

Kanser çeşitli çevresel ve genetik faktörlerin etkisiyle hücre çoğalmasını kontrol eden mekanizmalardaki aksaklıklar sonucu meydana gelir. Normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüşüm sürecine “karsinogenez” adı verilir. Karsinogenez, birbirini izleyen değişiklikler sonucu meydana gelen çok aşamalı bir süreçtir. Birçok kanser türünün ileri yaşlarda ortaya çıkması, karsinogenezin çok aşamalı ve uzun süreci ile açıklanabilir (56).

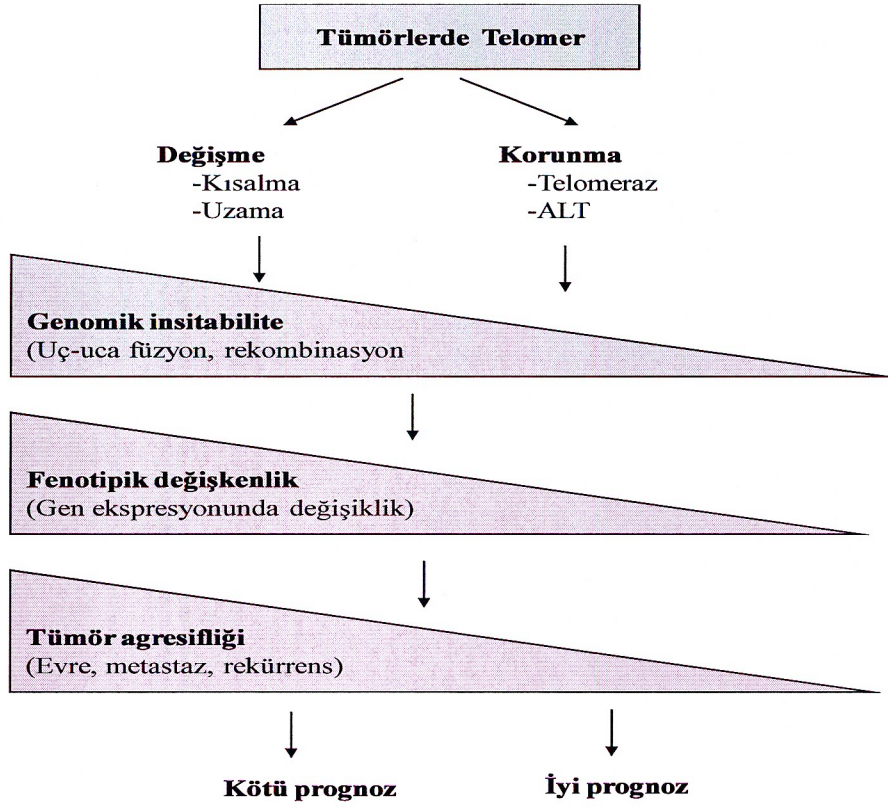
Karsinogenezin ilk aşaması ‘tümör başlangıcı’dır. Hücre çoğalmasıyla giderek büyüyen hücre topluluğunda, yeni mutasyonların da ortaya çıkması ile ‘tümör ilerlemesi’ aşamasına geçilir (56). Genomik instabilite kanserlerin ‘başlangıç’ ve ‘ilerleme’ aşamalarında kritik bir faktördür (57). Genomik instabilitenin altında yatan mekanizmalardan biri de telomer fonksiyon kaybıdır (3). Telomer dinamik bir yapıya sahiptir. Normal şartlarda kromozomların uç kısımları telomerler aracılığıyla korunmaktadır. Telomer, hücre bölünmesi sırasında replikasyon sonu problemi nedeniyle kısalır, telomeraz ve genetik rekombinasyon aracılığı ile de uzar. Telomerlerin oksidatif hasar sonucunda da kısaldığı bilinmektedir (5). Normal hücrelerde, bir seri hücre bölünmesi sonrası telomerler kritik boya ulaştığında artık fonksiyonlarını yerine getiremez ve genomik stabilite riske girer. Bu durumda, kromozom uçları, DNA hasarına cevap veren yolakları aktive ederek apoptozis uyarılır (58). Kanserde çoğu kez bu mekanizmalar inaktivedir, çünkü telomer bağlayıcı proteinlerde değişiklik veya kayıp söz konusudur, yine oksidatif strese bağlı DNA hasarı vardır (59). Telomer fonksiyon kaybı çeşitli kromozomal anormalliklerin meydana gelmesinde önemli bir basamaktır (5). Telomerlerde fonksiyon kaybı sonucu kromozomun uç kısmı artık korunamaz ve uç-uca füzyonlar meydana gelir. Bu füzyonlar; disentrik, multisentrik ve halka kromozomların oluşmasına neden olur. Oluşan disentrik ve halka kromozomlarda mitozun anafaz aşamasında kromatidler

normal şekilde ayrılmaz, bunun yerine kromatin köprüleri oluştururlar. Kromatin köprüleri mitotik iğlerin gerilimine bağlı olarak kırılır. Bu kırık uçlar birleşirler ve yeni disentrik ve halka kromozomlar oluştururlar. Sonunda ‘kırılma-füzyon-köprü’ siklusları olarak adlandırılan ve solid tümörlerde tipik olarak görülen çeşitli yapısal anormallikler ortaya çıkar. Eş zamanlı telomer kısalması ve anafaz köprüleşmesi epitelyal tümörlerin pek çoğunda gözlenmiştir (32). Sonuç olarak fonksiyonel olmayan telomerler kromozomal instabiliteye neden olarak karsinogeneziste önemli bir rol oynar.

2.2.7.1. Kanserde Telomer Uzunluğu ve Telomer Uzunluğunun Korunması

Kanser hücrelerinde telomer uzunluğu telomeraz enzimi ve ALT aracılığıyla korunmaya çalışılır. Yapılan çalışmalarda kanserlerin yaklaşık %85’inde telomeraz enzim aktivitesi saptanmıştır. Telomeraz enzim aktivitesi olmayan tümörlerin bir kısmında telomer uzunluğu ALT ile korunur. ALT’nin gözlendiği tümör tipleri ve tümör hücre kültürleri arasında osteosarkom, yumuşak doku sarkomu, glioblastoma multiforme, renal hücreli karsinom, adrenokortikal karsinom, akciğerin küçük-hücreli dışı karsinomu ve over karsinomu sayılabilir. Bu durumda, ALT’nin daha çok mezenkimal kaynaklı tümörlerde ve hücre kültürlerinde aktif olduğu söylenebilir. Bazı tümörlerde hem ALT hem de telomeraz aktivitesi mevcuttur, ancak tümörün bazı alanlarında telomeraz aktivitesi diğer alanlarında da ALT aktivitesi olup olmadığı ya da bu iki telomer uzunluğu koruyucu mekanizmanın aynı tümör hücresinde olup olmadığı bilinmemektedir (48).

Tümörlerde, telomer uzunluğu komşu normal dokuya göre değişiklik gösterir. Bu değişiklik kısalma veya uzama şeklinde olabilir. Epitelyal kanserlerde kısalmış telomerlerle birlikte telomeraz aktivasyonunun gözlenmesi, tümörlerin büyük çoğunluğunun gelişimi sırasında bazı noktalarda telomerlerin kritik bir boya kadar kısaldığı görüşünü desteklemektedir. Bu durum sadece replikasyon sonu problemi ile birlikte tümörün büyüme sürecinde görülen artmış hücre turnoverı sonucu meydana gelir. Diğer yandan, telomer kısalmasının erken dönemde ortaya çıkması, bu durumun karsinogenezisin başlangıç evresinde önemli bir rol aldığını gösterir (5). Telomerik DNA’nın büyük oranda değişmesi kompleks genomik anormalliklerin oluşmasına neden olur ve genomik instabilite meydana gelir. Genomik instabilite sonucu gen ekspresyonu bozulur. Bu değişikliklerin yaygınlığı arttıkça hücrenin invazyon, ekstrasvazyon ve metastaz kapasitesi artar (Şekil 6) (59).



Şekil 6. Telomerlerde fonksiyon kaybı ve tümörögenезis (59)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda Ekim 2008-Nisan 2009 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmaya 15'i hasta, 15'i kontrol grubu olmak üzere toplam 30 hasta dahil edildi. Çalışmaya dahil etme ve çalışmadan çıkarma-hariç tutma kriterleri sırayla Tablo III ve IV'te belirtilmiştir.

Tablo III. Çalışmaya Dahil Etme Kriterleri

-
- 18 yaş ve üzeri
 - Peptik ülser nedeniyle Billroth II tipi distal gastrektomi geçiren ve üst GİS endoskopide ARG tanısı konulan hastalar
-

Tablo IV. Çalışmadan Çıkarma-Hariç Tutma ve Çalışmaya Son Verme Kriterleri

-
- 18 yaş altı
 - Kronik sistemik hastalıklar (Diyabetes mellitus, hipertansiyon, koroner arter hastalığı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, serebrovasküler hastalık, kronik böbrek yetmezliği)
 - Son 4 hafta içerisinde antibiyotik, nonsteroid antiinflamatuvar ilaç, proton pompa inhibitörü, H2 reseptör antagonisti, sukralfat, kolestiramin veya prokinetik ajan kullanılması
 - Kanser
 - Sigara kullanımı
 - Gönüllü olur formunu imzalamayan hastalar
-

Kontrol grubu ise; hasta grubuyla yaş ve cinsiyet yönünden uyumlu, daha önce mide ameliyatı olmamış, dispeptik şikayetleri nedeniyle üst GİS endoskopisi planlanmış ve endoskopik bulguları normal olan hastalardan oluşturuldu. Kontrol grubu için çalışmadan çıkarma-hariç tutma kriterleri hasta grubuyla aynı olup, ek olarak primer

DGR'si olanlar ve kolesistektomi veya endoskopik bilier sfinkterotomi uygulanmış hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Üst GIS endoskopisi en az 8 saatlik açlığı takiben Olympus Exera CV-160 marka videoendoskoplar kullanılarak tek hekim tarafından yapıldı. İşlemden hemen önce hastaların orofarinksine lidokain sprej ile topikal anestezi uygulandı. İşlem sırasında saptanan endoskopik bulgular kaydedildi. Kayıtta Sydney klasifikasyonu kullanıldı. Histopatolojik inceleme için hasta grubunda anastomoza yakın mide mukozasından, kontrol grubunda ise korpustan alınan örnekler formalinde fikse edilerek Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Sydney klasifikasyonuna göre değerlendirildi (60). Histopatolojik kesitler Pas-alcian mavisi, H.pylori ise Toluidin mavisi ile boyanarak değerlendirildi. Endoskopik olarak enterogastrik safra reflüsünün görülmesi, safranın kalan mide boşunda göllenmesi ve mide mukozasının hiperemik ödemli görünümde olması ARG olarak kabul edildi.

3.2. Kullanılan Araç Ve Gereçler:

1. LightCycler (Seri no: 1400879, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
2. Laminar-flow (Nuair, Model No: Nu-425-400E)
3. High Pure PCR template preparation kit (Cat no. 11796828001, Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany)
4. LightCycler kapiller tüpler (Cat no. 04 929 292 001, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
5. LightCycler-FastStart DNA Master Hybridization Probes kit (Cat no. 3 0003 248, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
6. LightCycler-Control Kit DNA (Cat no. 2158833, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
7. TeloTAGGG telomere length assay kit (Roche, Cat no. 12209136001)
8. Spektrofotometre (IMPLEN NanoPhotometer, Seri no: 1271,U.K.)
9. FastStart DNA Master Hybridization Probe (Roche, Cat no.12239272001)

3.3. Kullanılan Kimyasallar

1. Histopaque-1077 (109H6043, SIGMA)
2. SYBR Green I (Sigma-Aldrich, S9430)
3. dNTP Set (Fermentas, R0181)
4. HBSS pH: 7.2
5. Beta globin forward ve reverse primer (Iontek 50 µM)
6. Telomer forward primer (Iontek 100 µM)
7. Telomer reverse primer (Iontek 50 µM)

3.4. Lenfosit ve Dokuların Elde Edilmesi

Üst GİS endoskopi işlemi sırasında ARG tanısı konularak çalışmaya alınan tüm hastaların anastomoza yakın mide mukozasından, kontrol grubunda ise korpustan; standart büyüklükteki biyopsi forsepsi kullanılarak 4 kadran toplam 6-8 adet biyopsi alındı ve alınan dokular HBSS solüsyonu içinde laboratuvara gönderildi. Tüm dokular çalışılacağı zamana kadar -70 °C’de saklandı.

Üst GİS endoskopi işlemi sonrası hastalardan EDTA’lı tüpe 4.5 cc kan alındı. Lenfosit izolasyonu için 1 mL Histopaque-1077 üzerine tabaka oluşturacak şekilde 1.5 mL kan eklenerek 1500xg, 4 °C’de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant başka bir tüpe alınarak üzerine 1 mL HBSS eklendi ve 400xg, 4 °C’de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı, 400 µL HBSS, 50 µL otolog plazma ve 50 µL DMSO eklendi ve hücreler resüspanse edildi. Numuneler deney yapılana kadar -70 °C’de saklandı.

3.4.1. Lenfositlerden DNA İzolasyonu

Lenfosit ve dokulardan DNA izolasyonu için High Pure PCR template preparation kit kullanıldı. Elde edilen DNA’lar deney yapılana kadar -70 °C’de saklandı.

3.4.2. Dokulardan DNA İzolasyonu

-70 °C’de saklanan dokular çözünmeden yaklaşık 25-50 mg tartılarak sıvı azot gazı ile pulverize edildi. Pulverize edilen dokular eppendorf tüplere aktarıldı. High Pure

PCR template preparation kit kullanılarak doku prosedürüne göre DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA'lar deney yapılana kadar -70 °C'de saklandı.

3.5. Kantitatif Real-Time PCR Metodunun Uygulanması

3.5.1. Telomer Primerlerinin Belirlenmesi

Çalışmada Richard Cawthon tarafından dizayn edilen telomer primer seti kullanıldı (55). Kullanılan telomer primer seti:

Telomer-forward:

5'-CGGTTTGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT-3'

Telomer-reverse:

5'-GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT-3'

3.5.2. Standartların Hazırlanması

LightCycler-Control Kit DNA'da bulunan 15µg/mL konsantrasyondaki genomik DNA dilüe edilerek standartlar hazırlandı. Standart aralığı 3000-46.875 pg/µL arası belirlendi. Çalışmada kullanılacak tüm numuneler dilüsyon yapılarak 50-100 pg/µL konsantrasyona ayarlandı.

3.5.3. Numunelerde Beta Globin PCR Çalışması

- Beta globin çalışması için LightCycler Control Kit DNA kiti kullanıldı.
- Tüm numuneler 50-100 pg/µL konsantrasyona ayarlandı.
- Beta globin standardı olarak 15 µg/mL insan genomu distile su ile dilüe edilerek, konsantrasyonu 300 pg/ µL'ye ayarlandı. Bu konsantrasyondan 2 kat seri dilüsyonla 7 adet Beta globin standardı hazırlandı.

Standart 1: 300 pg/µL

Standart 2: 150 pg/µL

Standart 3: 75 pg/µL

Standart 4: 37.5 pg/µL

Standart 5: 18.75 pg/µL

Standart6: 9.375 pg/ µL

Standart 7: 4.6875 pg/ µL

PCR'da 10 µL kullanıldığından standartlar 3000-46.875 pg/µL arasında oldu.

- Bu standart ve numuneler LightCycler-Control Kit DNA ve LightCycler (Roche) PCR cihazı ile çalışıldı.

3.5.4. Numunelerde Telomer PCR çalışılması

- Telomer forward ve Telomer reverse primerleri (Iontek) 10 µM olarak hazırlandı.
- Numuneler 40-50 pg/µL konsantrasyona ayarlandı.
- İnsan nükleer genom standardı 210 pg/µL konsantrasyona ayarlandı. Daha sonra bu konsantrasyondan 2 kat seri dilüsyonla 6 tane standart hazırlandı.

Standart 1: 210 pg/µL

Standart 2: 105 pg/µL

Standart 3: 52,50 pg/µL

Standart 4: 26,25 pg/µL

Standart 5: 13,12 pg/µL

Standart 6: 6,56 pg/µL

- PCR yapılırken 10 µL kullanıldığından standartlar 2100-65,6 pg/µL arasında oldu. LightCycler PCR cihazı kullanıldı.

3.5.5. Karşılaştırmalı C_T Metodu ile Relatif Kantitasyonun Yapılması

3.5.5.1. Numunelerin Normalizasyonu

Her numune için, telomer PCR çalışması sonucunda elde edilen ürün, beta globin PCR çalışması sonucunda elde edilen ürüne oranlanarak numuneler normalize edildi. Burada beta globin, tek kopya gen (single copy gene) olarak kullanıldı. PCR verimliliği %100 kabul edildiğinde telomer / single copy gene (T/S) oranı şu şekilde formülize edilmektedir:

$$2^{Ct(\text{telomer})} / 2^{Ct(36B4)} = 2^{[Ct(\text{telomer}) - Ct(36B4)]} = 2^{-\Delta Ct}$$

Beta globin PCR çalışması sonucunda elde edilen ürünlerin C_T değeri, telomer PCR çalışması sonucunda elde edilen ürünün C_T değerinden çıkarılarak, bütün numunelerin ΔC_T değeri bulundu ve formülde yerine koyarak T/S oranı hesaplandı.

3.5.5.2. Numunelerin Relatif T/S Oranlarının Bulunması

Her doku için T/S oranı ayrı ayrı hesaplandı ve 3.9 kb telomer standardı kalibratör olarak kabul edildi.

Relatif T/S oranı;

$$2^{\Delta C_t(\text{numune})} / 2^{\Delta C_t(\text{kalibratör})} = 2^{\Delta C_t(\text{numune}) - \Delta C_t(\text{kalibratör})} = 2^{-\Delta \Delta C_t}$$

şeklinde formülize edildiğinden, kalibratörün ΔC_T değeri numunelerin ΔC_T değerinden çıkarılarak, her numune için $\Delta \Delta C_T$ değeri bulundu. Daha sonra bu değerler formülde yerine konularak relatif T/S oranı hesaplandı.

3.5.6. Telomer Standardı Kullanılarak Numunelerin Kantitasyonu

Numunelerin telomer uzunluğunu kb olarak vermek için 3,9 ve 10,2 kb uzunluğunda insan telomer standartları (TeloTAGGG telomere length assay kit, Roche) kullanıldı.

3.6. Sonuçların İstatistiksel Analizi

Verilerin istatistiksel analizi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından yapıldı. Tüm veriler SPSS 13.0 paket programı ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygunlukları kontrol edildikten sonra; normal dağılım gösterenler için gruplar arası karşılaştırmada student-t testi, normal dağılım göstermeyenler için Mann Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik özellik taşıyan veriler için Chi-square testi ve Fisher's exact testi kullanıldı. Sayısal değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon katsayısı hesaplanarak değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmelerde anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 15'i hasta, 15'i kontrol grubu olmak üzere toplam 30 olgu alındı. Hasta grubunun yaş ortalaması 61.5±6.5 yıl (49-75 yıl), kontrol grubunun yaş ortalaması 61.5±6.4 yıl (49-75 yıl) idi. Her iki gruptaki hastaların tümü erkekti. Hasta grubu ile kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05). Çalışmaya dahil edilen grupların demografik özellikleri Tablo V'te belirtilmiştir.

Tablo V: Çalışma Gruplarının Demografik Özellikleri

Demografik Özellikler	Hasta	Kontrol	p
Erkek r/n (%)	15/15 (100)	15/15 (100)	p>0.05
Yaş (yıl) $\bar{X} \pm SD$	61.5±6.5	61.5±6.4	p>0.05

$\bar{X} \pm SD$: Ortalama±Standart sapma

Mide mukoza örneklerinde ortalama telomer uzunluğu hasta grubunda 14972.0±8122.9 bç, kontrol grubunda 11266.0±3466.4 bç olarak hesaplandı. Periferik kan lenfositlerinde ortalama telomer uzunluğu ise hasta ve kontrol grubunda sırayla 10728.7±6595.0 bç ve 13238.0±5051.5 bç idi (Tablo VI).

Tablo VI: Çalışma Gruplarının Mide Mukoza Örneklerinde ve Lenfositlerinde Telomer Uzunlukları

Telomer Uzunluğu (bç)	Hasta		Kontrol		P
	$\bar{X} \pm SD$	Med (min;maks)	$\bar{X} \pm SD$	Med (min;maks)	
Mide mukoza örnekleri	14972.0±8122.9	13990 (3040;30280)	11266.0±3466.4	11000 (2810;16720)	>0.05
Lenfositler	10728.7±6595.0	10120 (2700;30790)	13238.0±5051.5	12350 (1810;22710)	>0.05

$\bar{X} \pm SD$: Ortalama±Standart sapma

Her iki grupta Sydney sınıflamasına (23) göre histopatolojik tanuların varlığı yönünden fark bulunmadı (Tablo VII).

Tablo VII: Çalışma Gruplarında Mide Mukoza Örneklerinde Sydney Sınıflamasına Göre Histopatolojik Tanılar

Histopatolojik Tanı	Hasta r/n (%)	Kontrol r/n (%)	Toplam r/n (%)	p *
Kronik inflamasyon	13/15 (86.7)	13/15 (86.7)	26/30 (86.7)	>0.05
Nötrofil aktivitesi	8/15 (53.3)	9/15 (60)	17/30 (56.7)	>0.05
Glandüler atrofi	8/15 (53.3)	12/15 (80)	20/30 (66.7)	>0.05
İntestinal metaplazi	3/15 (20)	4/15 (26.7)	7/30 (23.3)	>0.05
H.pylori	5/15 (33.3)	8/15 (53.3)	13/30 (43.3)	>0.05

* Hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki istatistiksel anlamlılık

Grup ayırmaksızın tüm olgulardan alınan mide mukoza örneklerinde Sydney sınıflamasına göre histopatolojik tanların varlığı ile telomer uzunluğu arasındaki ilişkiye bakıldı. Histolojik tanların hepsinin varlığında telomer uzunluğunda kısalma olduğu görüldü (Tablo VIII).

Tablo VIII: Sydney Sınıflamasına Göre Histopatolojik Tanların Varlığı ile Mide Mukoza Örneklerinde Telomer Uzunluğu Arasındaki İlişki

Histopatolojik tanı	Hasta sayısı r/n	Yaş $\bar{X} \pm SD$	Telomer uzunluğu (bç)		
			$\bar{X} \pm SD$	Med (min;maks)	
Kronik inflamasyon	+	26/30	61.8±6.8	11883.8±5264.8 ^a	11210 (2810;29810)
	-	4/30	59.5±1.0	21147.5±8256.8 ^a	21120 (12070;30280)
Nötrofil aktivitesi	+	17/30	61.1±7.0	12029.4±7795.5 ^b	10340 (2810;30280)
	-	13/30	62.0±5.7	14543.8±3830.6 ^b	13990 (11000;25520)
Glandüler atrofi	+	7/30	60.6±6.4	12185.5±6386.1	11095 (2810;29810)
	-	23/30	63.4±6.3	14986.0±6392.9	13715 (6460;30280)
İntestinal metaplazi	+	20/30	56.4±5.6 ^c	10351.4±6236.7	12690 (2810;18470)
	-	10/30	63.0±5.9 ^c	13961.3±6366.4	12070 (7170;30280)
H.pylori	+	13/30	63.5±7.0	11597.7±6784.9	10340 (2810;29810)
	-	17/30	59.9±5.6	14282.35±6069.7	13440 (3040;30280)

$\bar{X} \pm SD$: Ortalama±Standart sapma, ^{a,b,c} p<0.05

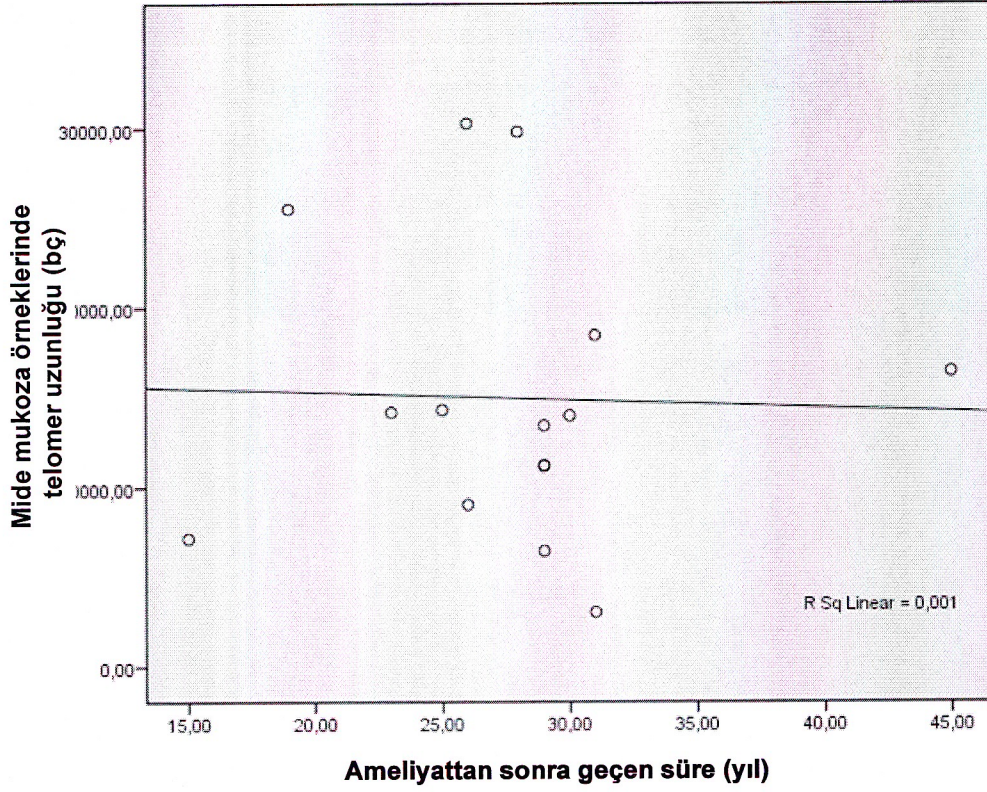
Çalışma gruplarında mide mukoza örneklerindeki Sydney sınıflamasına göre histopatolojik tanlar ile telomer uzunluğu arasındaki ilişkiye bakıldı. Histolojik tanlardan sadece hasta grubunda H.pylori pozitif olanlarda H.pylori negatif olanlara göre telomerler daha uzundu (Tablo IX).

Tablo IX: Çalışma Gruplarında Sydney Sınıflamasına Göre Histopatolojik Tanılar ile Mide Mukoza Örneklerinde Telomer Uzunluğu Arasındaki İlişki

Histopatolojik tanı	Hasta				Kontrol			
	Hasta sayısı n/r	Yaş $\bar{X} \pm SD$	Telomer uzunluğu (bç)		Hasta sayısı n/r	Yaş $\bar{X} \pm SD$	Telomer uzunluğu (bç)	
			$\bar{X} \pm SD$	Med (min;maks)			$\bar{X} \pm SD$	Med (min;maks)
Kronik inflamasyon	13/15	61.9±7.0	12983.1±6625.3*	13440	13/15	61.7±6.9	10784.0±3351.9	10750
	+			3040;29810				2810;15540
	2/15	60.0±1.4	27900.0±3365.8*	27900	2/15	60.0±1.4	14395.0±3288.0	14395
	-			25520;30280				12070;16720
Nötrofil aktivitesi	8/15	59.4±5.7	14806.3±10542.6	11610	9/15	62.7±8.0	14395.0±3288.0	10340
	+			3040;30280				2810;13450
	7/15	64.0±7.0	15161.4±4920.2	13990	6/15	59.7±2.7	9561.1±3118.0	13805
	-			11190;25520				11000;16720
Glandüler atrofi	8/15	59.6±5.8	14282.5±9113.8	12685	12/15	61.2±7.0	13823.3±2238.4	10715
	+			3040;29810				2810;15540
	7/15	63.7±7.1	15760.0±7463.0	13990	3/15	62.7±4.7	10787.5±3500.9	12070
	-			6460;30280				10750;16720
İntestinal metaplazi	3/15	56.7±6.8	9323.3±8103.7	6460	4/15	56.3±5.6	13180.0±3136.0	13070
	+			3040;18470				2810;15540
	12/15	62.8±6.1	16384.2±7820.5	14085	11/15	63.4±5.8	11122.5±5671.2	10750
	-			7170;30280				7710;16720
H.pylori	5/15	63.0±7.5	15180.0±9571.8	13990	8/15	63.9±7.2	9358.8±3415.9	9380
	+			6460;29810				2810;14960
	10/15	60.8±6.3	14868.0±7866.6	13810	7/15	58.7±4.5	13445.7±2007.7	12690
	-			3040;30280				11000;16720

$\bar{X} \pm SD$: Ortalama±Standart sapma, * p<0.05

Hasta grubunda ameliyattan sonra geçen süre ortalama 27.7±6.6 yıl (15-45 yıl) idi. Ameliyattan sonra geçen süre ile mide mukoza örneklerinde ölçülen telomer uzunluğu arasında negatif korelasyon saptandı, ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (r=-0.126) (p>0.05) (Şekil 7).

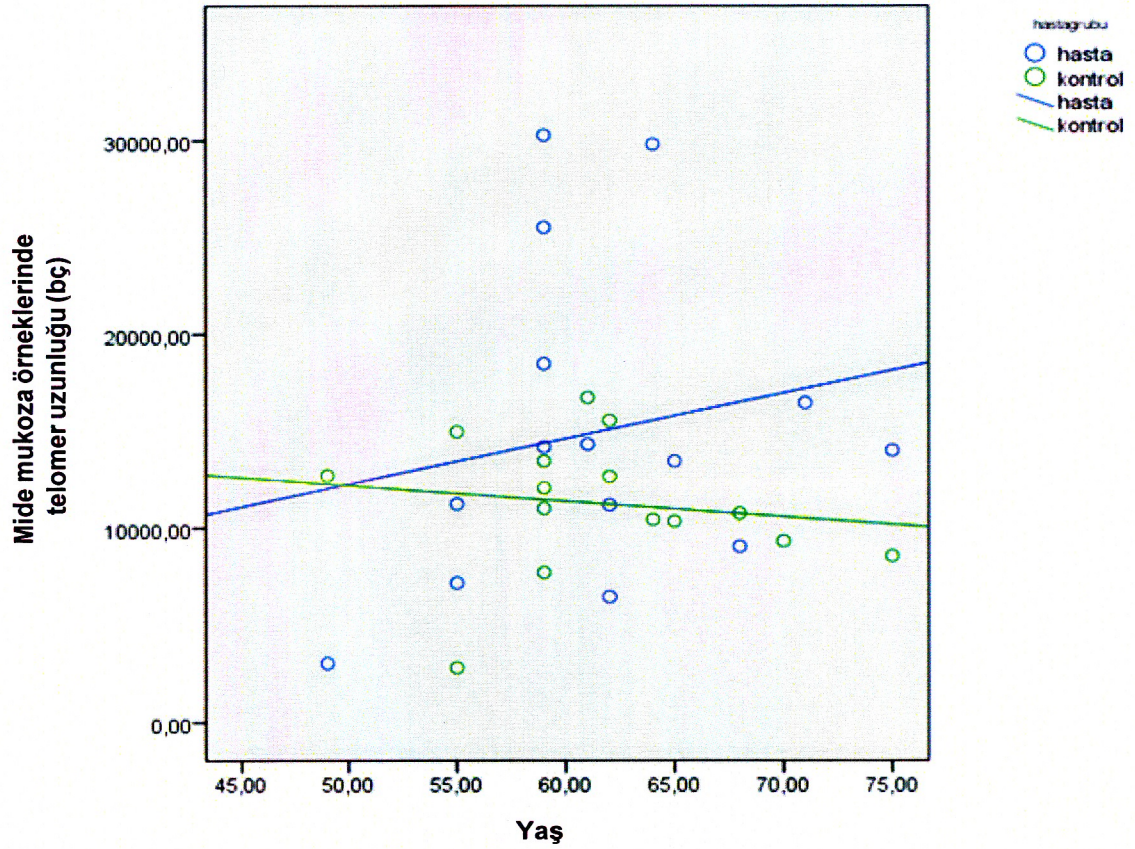


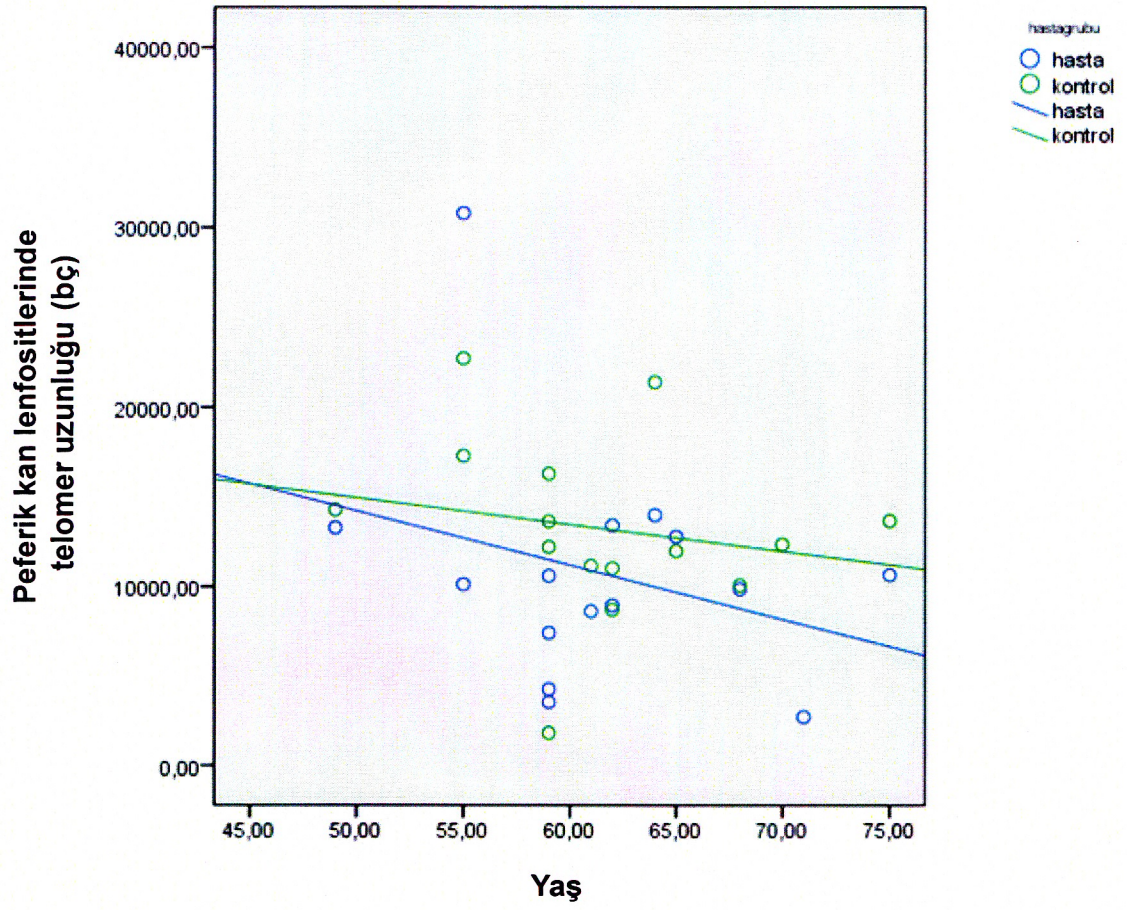
Şekil 7: Hasta grubunda ameliyattan sonra geçen süre ile mide mukoza örneklerinde telomer uzunluğu arasındaki ilişki

Hasta grubu ve kontrol grubunda hastaların yaşları ile periferik kan lenfositlerinde ve mide mukoza örneklerinde telomer uzunlukları arasındaki korelasyon incelendi. Kontrol grubunda yaş ile periferik kandan elde edilen lenfositlerdeki ve mide mukoza örneklerindeki telomer uzunlukları arasında negatif korelasyon varken, hasta grubunda; yaş ile lenfositlerdeki telomer uzunluğu arasında negatif korelasyon, mide mukoza örneklerindeki telomer uzunluğu arasında pozitif korelasyon saptandı ($p>0.05$) (Tablo X) (Şekil 8, 9).

Tablo X. Yaş ile Telomer Uzunlukları Arasındaki İlişki

Grup	Korelasyon katsayısı (r)	p
Hasta	r (yaş, lenfositlerdeki telomer uzunluğu) =	-0.108 >0.05
	r (yaş, mide mukoza örneklerindeki telomer uzunluğu) =	+0.189 >0.05
Kontrol	r (yaş, lenfositlerdeki telomer uzunluğu) =	-0.345 >0.05
	r (yaş, mide mukoza örneklerindeki telomer uzunluğu) =	-0.280 >0.05





Şekil 9: Çalışma gruplarında yaş ile periferik kan lenfositlerinde telomer uzunluğu arasındaki ilişki

5. TARTIŞMA

Günümüzde peptik ülser hastalığının cerrahi tedavisi, hastalığın fizyopatolojisinin daha iyi anlaşılması ve asit inhibisyonunda güçlü ilaçların geliştirilmesi ile seyrek uygulanmaktadır. Buna bağlı olarak, peptik ülser cerrahisinden sonra, önceki yıllarda sık bildirilen akut ve özellikle kronik komplikasyonlar da azalmıştır. Kronik dönemde gelişen önemli komplikasyonlardan biri, kalan midede kanser gelişmesidir. Kanser gelişme riski, Billroth II tipi distal gastrektomilerde, Billroth I tipi distal gastrektomilere göre daha yüksektir (1). Peptik ülser cerrahisinden sonra kalan midede gelişen mide kanserlerinin etyolojisi henüz iyi bilinmemektedir. Etiyolojide ileri sürülen başlıca faktörler arasında asit ve gastrin salgısında azalma, duodenogastrik reflü, H.pylori ve bakteriyel aşırı çoğalma sayılabilir. Kalan midede kanser gelişmesinde en fazla suçlanan faktör duodenogastrik reflüdür (1, 2).

Karsinogenez çok basamaklı bir süreçtir ve bu süreçte kromozomlarda çeşitli yapısal değişiklikler meydana gelmektedir. En erken ortaya çıkan kromozomal değişikliklerden biri telomer uzunluk anormallikleridir (5). Telomerler, ökaryotik kromozomların uç kısımlarında yerleşen nükleoprotein yapılarıdır. İnsan somatik hücrelerinde telomerler 1000-2000 kez tekrarlayan hekzanükleotid DNA sekanslarıdır (TTAGGG) (61). Telomerler kromozomların uç kısımlarını stabilize ederek kromozom bütünlüğünün korunmasında rol alırlar. Telomerler her hücre bölünmesinde replikasyon sonu problemi nedeniyle bir miktar kısalır. Hücre bölünmesi arttıkça telomerler daha da kısalır. Kritik düzeyde kısalan telomerler fonksiyon göremez hale gelir ve hücre artık bölünemez. Telomerlerde fonksiyon kaybı çeşitli kromozomal anormalliklerinin meydana gelmesinde önemli bir etkidir. Yaşlanma ile meydana gelen progresif telomer kısalması genomik instabiliteye neden olarak kanser riskini artırır (5).

Biz bu çalışmada; peptik ülser nedeniyle Bilroth II tipi distal gastrektomi geçirmiş hastalarda, periferik kandan elde edilen lenfositlerde ve mide mukoza örneklerinde ortalama telomer uzunluğunu ölçtük ve telomer uzunluğunun diğer klinikopatolojik parametreler ile ilişkisini araştırdık. Literatürde peptik ülser nedeniyle parsiyel gastrektomi geçirmiş hastalarda telomer uzunluğunun değerlendirildiği başka bir çalışmaya rastlamadık.

Proliferasyon yeteneği yüksek normal hücreler ve kanser hücrelerinde hücre bölünmesinin devam etmesi için, telomer uzunluğunun korunması gerekmektedir. Telomer uzunluğu telomeraz ve halen sadece kanser hücreleri ve kanser hücre kültürlerinde etkisi olduğu ileri sürülen ALT ile sağlanmaktadır. Telomeraz, ribonükloprotein yapısında bir ters transkriptaz enzimidir. Yapılan çalışmalarda periferik kan, kord kanı, kemik iliği lökositleri, epidermin bazal tabakası, endometrium ve koryonik villusta telomeraz enzim aktivitesi saptanmıştır (4). Kanser hücrelerinin yaklaşık %85'inde telomeraz enzim aktivitesi bulunmuştur. Telomeraz aktivasyonunun hücrenin ölümsüzlük kazanması için gerektiği ve bu nedenle karsinogenezde önemli bir basamak olduğu ispatlanmıştır (42). Mide kanserinde telomeraz aktivitesinin düzenlenmesi konusunda yapılan çalışmalar, atrofik gastritten mide kanserine geçiş sürecindeki moleküler mekanizmaların anlaşılmasına yardım etmiştir. Telomeraz aktivitesinin karsinogenez sürecinin hangi evresinde daha önemli rolü olduğu konusundaki tartışmalar halen devam etmektedir (62). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; kronik süperfisyel gastritte telomeraz aktivitesi bulunmamış, kronik atrofik gastritte %63.9, displazide %64.3 ve mide kanserinde %87.7 oranında telomeraz aktivitesi saptanmıştır. Çalışmada ayrıca kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazinin şiddetine dayanarak 2 gruba ayrılmış ve telomeraz aktivitesi, şiddetli intestinal metaplazi olan grupta, hafif intestinal metaplazi olan gruba göre daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$) (63). Mide kanseri ve midenin prekanseröz lezyonlarında telomeraz aktivitesini inceleyen bir çalışmada; normal mide mukozasında telomeraz aktivitesi bulunmamış, atrofik gastritte %24.6, intestinal metaplazide %33.3, displazide %37.5 oranında, mide kanserinde ise %92.3 oranında telomeraz aktivitesi saptanmıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre, telomeraz aktivasyonunun karsinogenezin erken safhalarında meydana geldiği ileri sürülmüştür (62). Bachor ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise; telomeraz aktivitesi tüm sindirim kanalında normal epitelde belirlenmiş ve prekanseröz lezyonlarda normal epitelden farklı bulunmamıştır. Çalışmada; mide kanserinde, tümörün çevresindeki normal ve premalign dokuya göre daha yüksek telomeraz aktivitesi saptanmıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre ise, sindirim kanalı kanserlerinde, telomeraz enzim aktivitesindeki artışın, karsinogenezin geç dönemlerinde ortaya çıktığı ileri sürülmüştür (4). Telomeraz enziminin katalitik subüniti olan TERT'in değerlendirildiği bir çalışmada; intestinal metaplazili dokularda,

intestinal metaplazi olmayan dokulara göre TERT gen ekspresyonunun daha sık olduğu bildirilmiştir ($p<0.05$) (64). Akay ve arkadaşlarının mide kanserli hastalarda yaptıkları bir çalışmada; telomeraz enzim aktivitesini sadece kanser dokusunda değil, kansere komşu mide mukozasında da saptamışlardır. Çalışmada, telomeraz aktivitesinin tümör invazyonu, lenf nodu tutulumu ve histolojik evre ile ilişkisi bulunamamıştır (65). Yang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; telomer uzunluğunun kronik atrofik gastritli hastalarda hastalık ilerledikçe kısaldığı saptanmıştır (62). Başka bir çalışmada; normal gastrik mukozada intestinal metaplazi olduğunda telomerlerin kısaldığı ifade edilmiştir (66). Biz çalışmamızda; Billroth II tipi distal gastrektomi geçiren tüm olgularımızda mide mukozasında potansiyel olarak mide kanserine ulaşabilecek histopatolojik değişiklikleri saptadık. Çalışmamızda hem hasta hem de kontrol grubunda, inflamasyon, glandüler atrofi ve intestinal metaplazi varlığında mide mukozasında telomer uzunluğu azalmıştı. Bu bulgular karsinogenez sürecindeki erken olayları yansıtabilir. Ancak, çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda olgu sayısının az olması nedeniyle, güvenilir istatistiksel karşılaştırma yapılamadı.

Telomer uzunluk anormallikleri, normal hücreden malign hücreye dönüşümündeki çok adımlı süreçte, erken ve sık görülen genetik değişikliklerden bir tanesidir. Son on yılda yapılan çalışmalar, birçok malign tümörde, periferik kan lenfositlerinde telomer uzunluğu azaldıkça kanser gelişme riskinin arttığını göstermiştir (67, 68, 69). Mide kanserinde, telomer uzunluğu konusunda literatürde sadece iki çalışma bulunmaktadır. Aida ve arkadaşları; 6 intestinal, 2 difüz tip mide kanserinde, kanserli doku ve çevresindeki nonkanseroz dokuda telomer uzunluğunu, telomer/sentromer oranını hesaplayarak, Q-FISH yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Çalışmada; kanser hücrelerinde, non-kanseroz epitel hücrelerine kıyasla, telomer uzunluğunun her zaman kısa olmadığını ve telomer uzunluğunun histolojik tipten bağımsız olduğunu saptamışlardır (70). Liu ve arkadaşlarının telomer uzunluğu ile gastrik kanser riski arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri bir vaka-kontrol çalışmasında; Çin popülasyonunda, q-PCR yöntemi ile periferik kan lenfositlerinde telomer uzunluğunun, mide kanserli hastalarda kontrol grubuna göre daha kısa olduğu ve telomer kısalmasının gastrik kanser riskini önemli derecede arttırdığı ileri sürülmüştür (71).

Epitelyal kanserlerin çoğu, intraepitelyal neoplazi olarak da tanımlanan prekürsör lezyonlardan gelişmektedir. Yapılan çalışmalarda; intraepitelyal tümörlerde genetik instabilite varlığının gösterilmesi, malign transformasyonda genetik değişikliklerin erken dönemde başladığını düşündürmüştür. Meeker ve arkadaşları; genetik instabilitede telomer fonksiyon bozukluğu etken ise, erken premalign lezyonlarda da telomer fonksiyonlarında bozulma olabileceğini ileri sürmüşlerdir (5). Premalign prostat ve pankreas lezyonlarının %90'ından fazlasında, telomerlerin kısaldığı saptanmıştır (72, 73, 74). Yapılan bir çalışmada oral kavite, özofagus, kolon, mesane ve serviksi içeren 35 intraepitelyal neoplazide en sık görülen telomer uzunluk anormalliğinin telomer kısalması olduğu bildirilmiştir (5). Kronik inflamatuvar barsak hastalıklarından ülseratif kolitin, kolorektal kanser gelişiminde predispozan bir faktör olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda ülseratif kolitli hastalarda yapılan bir çalışmada; hastalarda kontrol grubuna göre kolon epitel hücrelerinde telomer uzunluğunun azaldığı bildirilmiştir (75). Gastroözofagiyal reflü hastalığında, distal özofagustaki telomer uzunluğu kontrol grubuna göre kısa bulunmuş ($p < 0.05$) ve Barrett özofagusu varlığında telomerin daha fazla kısaldığı, ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir ($p > 0.05$) (76). Telomer kısalması, reflüden daha az etkilenen proksimal özofagusta saptanmamıştır. Yang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; midenin premalign lezyonlarında SB yöntemi ile telomer uzunluğu değerlendirilmiş ve normal mukozadan, atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve displaziye gidildikçe telomerlerin kısaldığı gözlenmiştir (62). Bizim çalışmamızda; peptik ülser nedeniyle Bilroth II tipi distal gastrektomi geçirmiş hastalarla, aynı yaş ve cinsiyetteki kontrol grubunda telomer uzunlukları değerlendirilmiştir. Hasta ve kontrol grubunun tümünde mide mukozasında Sydney klasifikasyonuna göre kronik gastritin histolojik özellikleri saptanmıştır. Çalışmamızda, hasta grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, mide mukoza örneklerinde telomer uzunluğunu artmış ($p > 0.05$), lenfositlerde ise telomer uzunluğunu azalmış bulduk ($p > 0.05$). Periferik kan lenfositlerindeki telomer uzunluğunun hasta grubunda azalması karsinogenezin erken bir bulgusu olabilir.

H.pylori, gastrik karsinogeneziste en çok suçlanan faktörlerden biridir. *H.pylori*, mide mukozasında kronik persistan inflamasyona neden olarak rejeneratif süreci hızlandırır. *H.pylori* ile tetiklenen inflamasyon, mide mukozasında atrofik gastrit, intestinal metaplazi gibi çeşitli morfolojik değişiklikler meydana getirir (77).

H.pylori'nin mide mukozasındaki genetik değişiklikler ve hücresele ölümsüzlük üzerine etkisi ile ilgili bilgiler sınırlıdır (78). Kuniyasu ve arkadaşlarının çalışmasında; H.pylori pozitif mide mukozasında, H.pylori negatif mide mukozasına göre, telomerlerin istatistiksel olarak anlamlı derecede kısaldığı gösterilmiştir (79). Liu ve arkadaşları çalışmalarında; periferik kandan elde edilen lenfositlerde q-PCR yöntemiyle ölçülen telomer uzunluğu ile H.pylori arasında, ne gastrik kanserli hastalarda ne de kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (71). Kameshima ve arkadaşlarının çalışmasında; ortalama telomeraz aktivitesinin intestinal metaplazide H.pylori varlığında H.pylori yokluğuna göre daha yüksek olduğu ($p<0.01$), fakat kronik gastritte ve mide kanserinde telomeraz aktivitesindeki yükselmenin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Çalışmada telomeraz aktivitesi H.pylori pozitif grupta, H.pylori negatif gruba göre yüksek saptanmıştır ($p>0.05$) (78). Aida ve arkadaşlarının telomer-sentromer oranı ile telomer uzunluğunu değerlendirdikleri çalışmalarında; midenin farklı tipteki epitelyal hücrelerinde H.pylori pozitif grup ile H.pylori negatif grup arasında telomer uzunluğu açısından önemli bir fark bulunmadığı, ancak fundus bezlerinde, H.pylori pozitif olanlarda, telomerlerin daha kısa olduğu bildirilmiştir (70). Çalışmamızda ise grup ayırmaksızın tüm H.pylori pozitif olgularda, H.pylori negatif olanlara göre mide mukoza örneklerinde telomerlerin daha kısa olduğu görüldü. Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise; mide mukoza örneklerinde telomerler hasta grubunda, H.pylori pozitif olanlarda negatif olanlara kıyasla daha uzun, kontrol grubunda ise H.pylori pozitif olanlarda negatif olanlara göre telomerler daha kısa bulundu. Çalışmamızda, hasta ve kontrol grubunda vaka sayısının az olması nedeniyle, güvenilir istatistiksel karşılaştırma yapılamamakla birlikte, H.pylori pozitif hasta grubunda, H.pylori pozitif kontrol grubuna kıyasla telomer uzunluğu daha fazla, yine, H.pylori negatif hasta grubunda, H.pylori negatif kontrol grubuna göre telomer uzunluğu daha fazla idi.

Telomer uzunluğu ile yaş arasındaki bağlantı konusunda yapılan çalışmalarda, yaş arttıkça telomerlerin kısaldığı bildirilmiştir. Ancak ileri yaşlarda bu ilişki ortadan kalkmaktadır (80, 81). Biz çalışmamızda; hasta grubunda, yaş ile periferik kandan elde edilen lenfositlerdeki telomer uzunluğu arasında negatif ilişki ($r=-0.108$), yaş ile mide mukoza örneklerindeki telomer uzunluğu arasında ise pozitif ilişki ($r= +0.189$) saptadık, fakat istatistiksel olarak bu ilişkiler önemli bulunamadı ($p>0.05$). Kontrol grubunda ise,

yaş ile periferik kandan elde edilen lenfositlerdeki telomer uzunluğu arasında ($r=-0.345$) ve yaş ile mide mukoza örneklerindeki telomer uzunlukları arasında negatif ilişki mevcuttu ($r=-0.280$), ancak istatistiki olarak bu ilişkiler de önemli bulunamadı ($p>0.05$). Hasta grubunda, kontrol grubundan farklı olarak, yaş ile mide mukoza örneklerindeki telomer uzunluğu arasında pozitif ilişki bulunması ve bu ilişkinin periferik kan lenfositlerde negatif olması, mide mukoza örneklerinde telomer uzunluğunu etkileyen ayrı bir faktörün varlığını düşündürmektedir. Çalışmamızda, telomeraz aktivitesini incelemediğimiz için, telomer uzunluğunu arttıran faktörün bu enzim olup olmadığını bilmiyoruz.

Bizim çalışmamızda mide mukoza örneklerinde ortalama telomer uzunluğunun hasta grubunda kontrol grubuna göre artmış olması, birçok nedene bağlanabilir. Bu nedenlerden biri; karsinogenezin erken aşamalarında meydana gelen telomeraz aktivasyonu olabilir. Telomer uzunluğunda artış ‘normal ALT-like activity’ sonucu da meydana gelmiş olabilir (48). Ayrıca bazı tümörlerde görülen uç-uca kromozom füzyonlarının telomer uzamasına neden olabileceği bildirilmiştir (82). Ancak biz çalışmamızda ne telomeraz aktivitesini ne de kromozomlardaki yapısal değişiklikleri incelemediğimiz için yorum yapamadık.

Farklı hücrelerde telomer uzunlukları da farklılık gösterir. Bu farklılık aynı organdaki hücreler için de geçerlidir. Mide mukozasının epitel hücreleri, endotel hücreleri, fibroblastlar, inflamatuvar hücreler ve düz kas hücreleri gibi farklı hücrelerden oluştuğu göz önüne alındığında bu hücrelerin de telomer uzunlukları arasında da farklılık olabileceği unutulmamalıdır. Midede intramukozal lenfositlerin diğer mukoza hücrelerine göre en uzun telomerlere sahip olduğu bildirilmiştir (79). Billroth II tipi distal gastrektomili hastalarda kalan mide mukozasında kronik inflamatuvar hücrelerden özellikle lenfositler artmaktadır (16). Bu nedenle mide mukoza örneklerinde telomerler hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla daha uzun bulunmuş olabilir. Çalışmamızda mide mukoza hücrelerinin ayırımı yapılmadığından bu konuda kesin bir kanıya varılamadı.

Mide güdüğü karsinogenezinin erken aşamalarında telomer uzunluğunun ve telomeraz aktivitesinin belirlenmesinin hastalığın erken tanısında ve tedavisinde yol gösterici birer moleküler belirteç olabileceğini düşünüyoruz. Mide güdüğü karsinogenezinin erken basamaklarında, telomer uzunluk anormalliklerinin yararlı

olduğunu ileri sürmek için, daha geniş hasta populasyonunlu çalışmaların yapılmasının uygun olduğu düşüncesindeyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Miwa K, Hattori T, Miyazaki I. Duodenogastric reflux and foregut carcinogenesis. *Cancer*. 1995; 75(6): 1426-32.
2. Sinning C, Schaefer N, Standop J, Hirner A, Wolff M. Gastric stump carcinoma - epidemiology and current concepts in pathogenesis and treatment. *Eur J Surg Oncol*. 2007; 33(2): 133-9.
3. Callén E, Surrallés J. Telomere dysfunction in genome instability syndromes. *Mutat Res*. 2004; 567: 85-104.
4. Bachor C, Bachor OA, Boukamp P. Telomerase is active in normal gastrointestinal mucosa and not up-regulated in precancerous lesions. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1999; 125: 453-60.
5. Meeker AK, Hicks JL, Iacobuzio-Donahue CA, Montgomery EA, Westra WH, Chan TY, Ronnett BM, De Marzo AM. Telomere length abnormalities occur early in the initiation of epithelial carcinogenesis. *Clin Cancer Res*. 2004; 10: 3317-26.
6. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer*. 1997; 33: 787-91.
7. Lin KW, Yan J. The telomere length dynamic and methods of its assessment. *J Cell Mol Med*. 2005; 9: 977-89.
8. Chang MS, Lee JH, Kim JP, Kim HS, Lee HS, Kim CW, Kim YI, Kim WH. Microsatellite instability and Epstein-Barr virus infection in gastric remnant cancers. *Pathol Int*. 2000; 50: 486-92.
9. Balfour DC. Factors influencing the life expectancy of patients operated on for gastric ulcer. *Ann Surg*. 1922; 76: 405-8.
10. Toftgaard C. Gastric cancer after peptic ulcer surgery. A historic prospective cohort investigation. *Ann Surg*. 1989; 210: 159-64.
11. Matsui N, Yao T, Akazawa K, Nawata H, Tsuneyoshi M. Different characteristics of carcinoma in the gastric remnant: histochemical and immunohistochemical studies. *Oncol Rep*. 2001; 8: 17-26.
12. Kondo K. Duodenogastric reflux and gastric stump carcinoma. *Gastric Cancer*. 2002; 5: 16-22.
13. Ritchie WP Jr. Alkaline reflux gastritis. *Gastroenterol Clin North Am*. 1994; 23: 281-94.

14. Davidson ED, Hersh T. The surgical treatment of bile reflux gastritis: a study of 59 patients. *Ann Surg.* 1980; 192: 175.
15. Zobolas B, Sakorafas GH, Kouroukli I, Glynatsis M, Peros G, Bramis J. Alkaline reflux gastritis: early and late results of surgery. *World J Surg.* 2006; 30: 1043-9.
16. Burden WR, Hodges RP, Hsu M, O'Leary JP. Alkaline reflux gastritis. *Surg Clin North Am.* 1991; 71: 33-44.
17. Thorban S, Böttcher K, Etter M, Roder JD, Busch R, Siewert JR. Prognostic factors in gastric stump carcinoma. *Ann Surg.* 2000; 231: 188-94.
18. Loffeld RJ, Loffeld BC, Arends JW, Flendrig JA, van Spreeuwel JP. Retrospective study of Campylobacter-like organisms in patients undergoing partial gastrectomy. *J Clin Pathol.* 1988; 41: 1313-5.
19. Offerhaus GJ, Rieu PN, Jansen JB, Joosten HJ, Lamers CB. Prospective comparative study of the influence of postoperative bile reflux on gastric mucosal histology and Campylobacter pylori infection. *Gut.* 1989; 30: 1552-7.
20. Seoane A, Bessa X, Alameda F, Munné A, Gallen M, Navarro S, O'Callaghan E, Panadès A, Andreu M, Bory F. Role of Helicobacter pylori in stomach cancer after partial gastrectomy for benign ulcer disease. *Rev Esp Enferm Dig.* 2005; 97: 778-85.
21. Nakagawara H, Miwa K, Nakamura S, Hattori T. Duodenogastric reflux sustains Helicobacter pylori infection in the gastric stump. *Scand J Gastroenterol.* 2003; 38: 931-7.
22. Szekeley L, Selivanova G, Magnusson KP, Klein G, Wiman KG. EBNA-5, an Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen, binds to the retinoblastoma and p53 proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90: 5455-9.
23. Price, AB. The Sydney system: Histological division. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 209.
24. DuPlessis DJ. Gastric mucosal changes after operations on the stomach. *S African Med J.* 1962; 36: 471-8.
25. Van Heerden JA, Priestley JT, Farrow GM, Phillips SF. Postoperative alkaline reflux gastritis: surgical implications. *Am J Surg* 1969; 118: 427-33.

26. Stabile BE, Passaro E Jr: Sequelae of surgery for peptic ulcer. In Haubrich WS, Schaffner F, Berk JE (eds), Pounder RE (section ed): *Bockus Gastroenterology*, 4th edition, 1985, WB Saunders, Philadelphia, pp 1225-54.
27. Boren CH, Way LW. Alkaline reflux gastritis: a reevaluation. *Am J Surg.* 1980; 140: 40-6.
28. Wai LK. Telomeres, telomerase and tumorigenesis - A review. *Med Gen Med.* 2004; 6: 19.
29. Londono-Vallejo JA, DerSarkissian H, Cazes L, Thomas G. Differences in telomere length between homologous chromosomes in humans. *Nucleic Acids Res.* 2001; 29: 3164-71.
30. Gasser SM. Turning telomeres off and on. *Curr Opin Cell Biol.* 2001; 13: 281-9.
31. Koutroumba P, Polychronopoulou S, Haidas S. Structure and function of telomeres/telomerase and their role in preleukemia and haematologic malignancies. *Haema.* 2003; 6: 35-47.
32. Calcagnile O, Gisselsson D. Cytogenet Telomere dysfunction and telomerase activation in cancer-a pathological paradox? *Genome Res.* 2007; 118: 270-6.
33. Levy MZ, Allshop RC, Futcher AB, Greider CW, Harley CB. Telomere end-replication problem and cell aging. *J Mol Biol.* 1992; 225: 951-60.
34. Houben JM, Moonen HJ, van Schooten FJ, Hageman GJ. Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med.* 2008; 44: 235-46.
35. Hao YH, Tan Z. The generation of long telomere overhangs in human cells: a model and its implication. *Bioinformatics.* 2002; 18: 666-71.
36. www.senescence.info/end_replication.gif
37. Blasco MA: Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet.* 2005; 6: 611-22.
38. www.nature.com/nrc/journal/v2/n111/thumbs/nrc929-f1.jpg
39. Blasco MA. Mammalian telomeres and telomerase: why they matter for cancer and aging. *Eur J Cell Biol.* 2003; 82: 441-6.
40. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, and Walter P. *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition, 2002, Garland Science, New York.

41. Dong CK, Masutomi K and Hahn WC. Telomerase: regulation, function and transformation. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2005; 54: 85-93.
42. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, Coviello GM, Wright WE, Weinrich SL, Shay JW. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*. 1994; 266: 2011-5.
43. Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Dev Genet*. 1996; 18: 173-9.
44. Hiyama E, Hiyama K, Tatsumoto N, Shay JW, Yokoyama T: Telomerase activity in human intestine. *Int J Oncol*. 1996; 9: 453-8.
45. Neumann AA, Reddel RR. Telomere maintenance and cancer – look, no telomerase. *Nat Rev Cancer*. 2002; 2: 879-84.
46. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer*. 1997; 33: 787-91.
47. Niida H. Telomere maintenance in telomerase deficient mouse embryonic stem cells: characterization of an amplified telomeric DNA. *Mol Cell Biol*. 2000; 20: 4115-27.
48. Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres, telomerase, and cancer. *Cancer Lett*. 2003; 194:155-62.
49. Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res*. 1965; 37: 614-36.
50. Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol*. 1973; 41: 181-90.
51. Counter CM, Avilion AA, LeFeeuvre CE, Stewart NG, Greider CW, Harley CB and Bacchetti S. Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J*. 1992; 11: 1921-9.
52. Shay JW, Wright WE, Brasiskyte D and Van der Haegen BA. E6 of human papillomavirus type 16 can overcome the M1 stage of immortalization in human mammary epithelial cells but not in human fibroblasts. *Oncogene*. 1993; 8: 1407-13.
53. Reddel RR. The role of senescence and immortalization in carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 2000 ;21: 477-84.

54. Başaran A. Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı. Günes&Nobel Kitabevleri, Genisletilmiş 7. Baskı, 2005.
55. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30: e47.
56. GM Cooper, Hausman RE/Çeviri editörleri: Sakızlı M, Atabey N. Hücre, moleküler yaklaşım (çeviri). İzmir Tıp Kitabevi, 3. Baskı. 2006, sf 631-4.
57. Charames GS, Bapat B. Genomic instability and cancer. *Curr Mol Med.* 2003; 3: 589-96.
58. Feldser DM, Hackett JA, Greider CW. Telomere dysfunction and the initiation of genome instability. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3: 623-7.
59. Bisoffi M, Heaphy CM, Griffith JK. Telomeres: prognostic markers for solid tumors. *Int J Cancer.* 2006; 119: 2255-60.
60. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol.* 1996; 20: 1161-81.
61. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, Meyne J, Ratliff RL, Wu JR. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes.. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988; 85: 6622-6.
62. Yang SM, Fang DC, Luo YH, Lu R, Battle PD, Liu WW. Alterations of telomerase activity and terminal restriction fragment in gastric cancer and its premalignant lesions. *J Gastroenterol Hepatol.* 2001; 16: 876-82.
63. Guo-Xin Zhang, Yan-Hong Gu, Zhi-Quan Zhao, Shun-Fu Xu, Hong-Ji Zhang, Hong-Di Wang, Bo Hao. Coordinate increase of telomerase activity and c-Myc expression in Helicobacter pylori-associated gastric diseases. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1759-62.
64. Suzuki K, Kashimura H, Ohkawa J, Itabashi M, Watanabe T, Sawahata T, Nakahara A, Muto H, Tanaka N. Expression of human telomerase catalytic subunit gene in cancerous and precancerous gastric conditions. *J Gastroenterol Hepatol.* 2000; 15: 744-51.

65. Gümüş-Akay G, Unal AE, Bayar S, Karadayi K, Elhan AH, Sunguroğlu A, Tükün A. Telomerase activity could be used as a marker for neoplastic transformation in gastric adenocarcinoma: but it does not have a prognostic significance. *Genet Mol Res.* 2007; 6: 41-9.
66. Maruyama Y, Hanai H, Kaneko E. Telomere length and telomerase activity in intestinal metaplasia, adenoma and well differentiated adenocarcinoma of the stomach. (Article in Japanese, Abstract in English). *Nippon Rinsho.* 1998; 56: 1186-9.
67. Broberg K, Björk J, Paulsson K, Höglund M, Albin M. Constitutional short telomeres are strong genetic susceptibility markers for bladder cancer. *Carcinogenesis.* 2005; 26: 1263-71.
68. Wu X, Amos CI, Zhu Y, Zhao H, Grossman BH, Shay JW, Luo S, Hong WK, Spitz MR. Telomere dysfunction: a potential cancer predisposition factor. *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95: 1211-8.
69. Shen J, Terry MB, Gurvich I, Liao Y, Senie RT, Santella RM. Short telomere length and breast cancer risk: a study in sister sets. *Cancer Res.* 2007; 67: 5538-44.
70. Aida J, Izumiyama-Shimomura N, Nakamura K, Ishii A, Ishikawa N, Honma N, Kurabayashi R, Kammori M, Poon SS, Arai T, Takubo K. Telomere length variations in 6 mucosal cell types of gastric tissue observed using a novel quantitative fluorescence in situ hybridization method. *Hum Pathol.* 2007; 38: 1192-200.
71. Liu X, Bao G, Huo T, Wang Z, He X, Dong G. Constitutive telomere length and gastric cancer risk: case-control analysis in Chinese Han population. *Cancer Sci.* 2009; 100: 1300-5.
72. Meeker AK, Hicks JL, Platz EA, March GE, Bennett CJ, Delannoy MJ, De Marzo AM. Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis. *Cancer Res.* 2002; 62: 6405-9.
73. Vukovic B, Park PC, Al-Maghrabi J, Beheshti B, Sweet J, Evans A, Trachtenberg J, Squire J. Evidence of multifocality of telomere erosion in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (HPIN) and concurrent carcinoma. *Oncogene.* 2003; 22: 1978-87.

74. van Heek NT, Meeker AK, Kern SE, Yeo CJ, Lillemoe KD, Cameron JL, Offerhaus GJ, Hicks JL, Wilentz RE, Goggins MG, De Marzo AM, Hruban RH, Maitra A. Telomere shortening is nearly universal in pancreatic intraepithelial neoplasia. *Am J Pathol.* 2002; 161: 1541-7.
75. O'Sullivan JN, Bronner MP, Brentnall TA, Finley JC, Shen WT, Emerson S, Emond MJ. Chromosomal instability in ulcerative colitis is related to telomere shortening. *Nat Genet.* 2002; 32: 280-4.
76. Souza RF, Lunsford T, Ramirez RD, Zhang X, Lee EL, Shen Y, Owen C, Shay JW, Morales C, Spechler SJ. GERD is associated with shortened telomeres in the squamous epithelium of the distal esophagus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007; 293: G19-24.
77. Kuipers EJ, Uytendaele AM, Peña AS, Roosendaal R, Pals G, Nelis GF, Festen HP, Meuwissen SG. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. *Lancet.* 1995; 345: 1525-8.
78. Kameshima H, Yagihashi A, Yajima T, Kobayashi D, Denno R, Hirata K, Watanabe N. *Helicobacter pylori* infection: augmentation of telomerase activity in cancer and noncancerous tissues. *World J Surg.* 2000; 24: 1243-9.
79. Kuniyasu H, Kitadai Y, Mieno H, Yasui W. *Helicobacter pylori* infection is closely associated with telomere reduction in gastric mucosa. *Oncology.* 2003; 65: 275-82.
80. O'Sullivan J, Risques RA, Mandelson MT, Chen L, Brentnall TA, Bronner MP, Macmillan MP, Feng Z, Siebert JR, Potter JD, Rabinovitch PS. Telomere length in the colon declines with age: a relation to colorectal cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15: 573-7.
81. Woo J, Suen EW, Leung JC, Tang NL, Ebrahim S. Older men with higher self-rated socioeconomic status have shorter telomeres. *Age Ageing.* 2009 Jun 25. [Epub ahead of print]
82. Lindsey J, McGill NI, Lindsey LA, Green DK, Cooke HJ. In vivo loss of telomeric repeats with age in humans. *Mutat Res.* 1991; 256: 45-8.

