

T. C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**HELİKOBAKTER PİLORİ (+) VE (-) İNTESTİNAL
METAPLAZİ HASTALARINDAKİ GSTP1 GENİNİN
METİLASYON PROFİLİNİN MİDE TÜMÖRLÜ
HASTALARLA KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Gülcan AŞIK

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Hakan YÜCEYAR

Manisa, 2011

T. C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**HELİKOBAKTER PİLORİ (+) VE (-) İNTESTİNAL
METAPLAZİ HASTALARINDAKİ GSTP1 GENİNİN
METİLASYON PROFİLİNİN MİDE TÜMÖRLÜ
HASTALARLA KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Gülcan AŞIK

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Hakan YÜCEYAR

Manisa, 2011

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca; bilgi ve deneyimleriyle bana örnek olan, bilimsel ve mesleki anlamda eğitimime katkıda bulunarak bakış açımı genişleten tüm hocalarıma, başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Seyhun KÜRŞAT ve tezimin oluşturulması ve yürütülmesinde katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof.Dr. Hakan YÜCEYAR' a, Sayın Prof. Dr. Ülkü ERGENE'ye, Sayın Prof Dr. Bilgin ÖZMEN'e, Sayın Prof. Dr. Timur PIRILDAR'a, Sayın Prof. Dr. Cengiz KIRMAZ'a, Sayın Prof. Dr. Zeliha HEKİMSOY'a, Sayın Prof. Dr. Ender ELLİDOKUZ'a, Sayın Doç. Dr. Gamze GÖKSEL'e, Sayın Yard. Doç. Dr. Mine MİSKİOĞLU'na ve tezimle ilgili bilimsel ve manevi desteklerinden dolayı Sayın Yard. Doç. Dr. Elmas KASAP' a, tek tek sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi tamamlama sürecinde benden desteklerini esirgemeyen Uzm. Emre Gerçeker, Uzm Dr. Ahmed Baykan, endoskopi hemşirelerimiz Ayşen Sertdemir ve Nuray Eray'a çok teşekkür ederim.

Asistanlık sürem boyunca mesleki anlamda çok şey öğrendiğim ve her anlamda benden desteklerini esirgemeyen Uzm. Dr.Ayça İNCİ ve Uzm Dr.Dilek KUTSAL' a çok teşekkür ederim.

Asistanlığım sürecinde birlikte çalışmaktan onur duyduğum, birçok güzelliği paylaştığım diğer tüm asistan arkadaşlarıma, İç hastalıkları kliniğinde birlikte çalıştığımız adını sayamadığım tüm uzmanlarımıza, hemşirelerimize ve personele ayrıca teşekkür ediyorum.

Hayatımın her anında ilgi ve desteğini benden esirgemeyen sevgili eşime ve aileme, doğduğu günden beri hayatıma anlam katan biricik oğlum ARDA'ya da çok teşekkür ederim.

Dr. Gülcan AŞIK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II-IV
KISALTMALAR	V-VI
I. GİRİŞ	1-3
II. GENEL BİLGİLER	4-47
2.1. Helikobakter Piloni	4-16
2.1.1. Helikobakter Piloni Epidemiyoloji	4-5
2.1.2. Helikobakter Piloni Patogenez	5-8
2.1.3. Helikobakter Piloni Tanı Yöntemleri	8-10
2.1.4. Helikobakter Piloni ile İlişkili Hastalıklar	11-12
2.1.5. Mide Kanseri ve Helikobakter Piloni İlişkisi	12-16
2.2. İntestinal Metaplazi	16-21
2.2.1. İntestinal Metaplazi Tipleri	16-17
2.2.2. İntestinal Metaplazi Epidemiyoloji	17-18
2.2.3. İntestinal Metaplazi Etyoloji	19
2.2.4. Mide Kanseri ve İntestinal Metaplazi İlişkisi	20-21
2.3. Mide Kanseri	21-36
2.3.1. Mide Anatomisi, Histolojisi ve Embriyolojisi	22-25
2.3.1.1. Midenin Anatomisi	22-23
2.3.1.2. Midenin Histolojisi	23-24
2.3.1.3. Midenin Embriyolojisi	24-25

2.3.2. Mide Kanseri Epidemiyolojisi	25-26
2.3.3. Mide Kanserinde Etyolojik Faktörler	26-28
2.3.4. Mide Kanseri Sınıflandırılması	29-30
2.3.5. Mide Kanserinde Klinik ve Laboratuvar	31-32
2.3.5.1. Mide Kanserinde Klinik	31
2.3.5.2. Mide kanserinde Laboratuvar	32
2.3.6. Mide Kanserinin Tanısı	32-33
2.3.7. Mide Kanserinin Tedavisi	33-36
2.4. Kanser Gelişimi	36-47
2.4.1. Kanserin Yayılımı	36-38
2.4.2. Kanserin Genetiği	38-40
2.4.3. Metilasyon ve Epigenetik	40-41
2.4.4. Metilasyon ve Kanser Gelişimi	42-45
2.4.4.1. Genlerin Promotor Bölge Hipermetilasyonu	42-43
2.4.4.2. Tümör Belirteci Olarak DNA Hipermetilasyonu	44-45
2.4.5. Glutatyon S transferaz	45-46
2.4.6. GSTP-1 ve Mide Kanseri	46-47
III. GEREÇ VE YÖNTEM	48-61
3.1. Doku Örneklerinin Toplanması	48-50
3.2. Kullanılan Cihazlar	50-51
3.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	51
3.4. Kullanılan Tampon Çözeltiler	52-53
3.4.1. Bisülfid Modifikasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar	52
3.4.2. Elektroforez İçin Kullanılan Solüsyonlar	53
3.5. Kullanılan Yöntemler	53-61
3.5.1. Dokudan DNA İzolasyonu	53-56

3.5.1.1. Invitrogene Marka Dokudan DNA İzolasyon İşlemi	53-55
3.5.1.2. Qiagen Marka Dokudan DNA İzolasyon İşlemi	55-56
3.5.2. DNA'nın Spektrofotometre İle Konsantrasyon Ölçümü	56-57
3.5.3. Bisülfid Modifikasyonu	57-59
3.5.4. Metilasyona Özgül PCR (MS-PCR)	59-60
3.5.5. Agaroz Jel Elektroforezi	60-61
3.6. İstatistiksel Analiz	61
IV. BULGULAR	62-81
V. TARTIŞMA	82-92
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	93
VII. ÖZET	94-95
VIII. İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	96-97
IX. KAYNAKLAR	98-126

KISALTMALAR

APC : Ailesel Polipozis Koli

Bab: Kan grubu antijen bağlayan adhezin (Blood group antigen binding adhesion)

BT: Bilgisayarlı Tomografi

BRCA1 : Breast(meme) kanser geni 1 .

Cag A: Sitotoksin ilişkili gen A (Cytotoxin associated gene A)

CCK-2: Kolesistokin-2

CEA: Karsinomoembriyojenik antijen

CLO: Campylobacter-Like Organism

CO2: Karbondioksit

CpG: Guanozin tarafından takip edilen Sitozin bazı bölgeleri

COX-2: Siklooksijenaz -2

DA : Dalton Angstrom

DCC: Deleted kolon kanser geni

DNA : Deoksiribonükleik asit

EGF: Epidermal büyüme faktörü

GST: Glutasyon S-Transferaz

GSTP-1: Glutasyon S-Transferaz P1

Gy : Gray

HGF: Hepatosit büyüme faktörü

Hp : Helikobakter pilori

hMLH1: Human mut L homolog geni

IARC: The International Agency for Research on Cancer

Ig: Immunglobulin

IL: İnterlökin
İM: İntestinal metaplazi
MALToma : Lenfoma, Mucosa-Associated Lymphoid Tissue.
MR: Manyetik rezonans
MGMT : O-metilguanin-DNA-metil transferaz
µl : Mikrolitre
mL : Mililitre
NADPH : Nikotin amid adenin dinükleotit fosfat
NaOH : Sodyum hidroksit
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentetaz
nm: Nanometre
OipA: Membran dışı inflamatuvar protein (outer membrane inflammatory protein)
Rb : Retinoblastom geni
RNA: ribonükleik asit
P53: Tümör protein 53 geni
PBS: Phosphate-buffered saline)
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
PCR-RFLP : PCR kısıtlayıcı parçacık uzunluk polimorfizmi
PG-E2: prostoglandin-E2
PNL: Polimorfonükleer lökosit
TBE: Tris-borate-EDTA
TGF: Transforme edici büyüme faktörü (Tranforming growth faktör)
TNF: Tümör nekroz faktör
Vac A: Vakuol yapıcı toksin (Vacuolating toxin)
VEGF: vasküler endotelyal büyüme faktörü

I. GİRİŞ

Mide adenokarsinomu dünyadaki en yaygın malignitelerden biridir. Etiyolojisi multifaktöryeldir ve Helikobakter pilori, beslenme alışkanlıkları, çevresel ve %10 oranında genetik faktörler sorumlu tutulmaktadır. İnsidansı coğrafi varyasyonlar gösterir (1,2). Mide kanseri erkeklerde kadınlara oranla yaklaşık 2 kat daha sık görülür (3). Gelişmekte olan ülkeler ve gelişmiş ülkelerde kanser sıralamasında farklılık olsa da dünya çapında her yıl ortalama yaklaşık 700.000 kişi bu hastalıktan ölmekte olup, yıllık insidansı 800.000 vakadır. (4).

Mide kanseri histolojik olarak, Lauren sınıflamasına göre intestinal ve diffüz tip olarak sınıflandırılır (5). Epidemiyolojik çalışmalarda, intestinal tip karsinomların diffüz tipe göre çevresel faktörlerden daha fazla etkilendiği belirtilmiştir (7). Helikobakter pilori gastriti ilerleyerek glandüler atrofi ve intestinal metaplazi ile sonuçlanabilir. Helikobakter pilori enfeksiyonu, atrofi ve intestinal metaplazi ile mide karsinogenezisi arasında bağlantı olduğu belirtilmektedir (8). Helikobakter pilori enfeksiyonunun, mide mukozasındaki hücrelerde promotör bölge hipermetilasyonuna yol açtığı ve bu şekilde kanserleşme sürecine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (9).

Karsinogenezis, tümör süpresör genlerin inaktivasyonu ve protoonkogenlerin aktivasyonu sonucu, klonal çoğalmaya uğrayan ve selektif olarak proliferasyon yeteneği kazanan hücrelerde, karsinojenlerin indüklediği genetik ve epigenetik hasar ile sürdürülen çok basamaklı ve multifaktöryel bir süreçtir (10). Mide karsinogenezisi de çok basamaklı seyir

gösterir. Mide kanseri gelişiminde nokta mutasyonu, heterozigosite kaybı ve hipermetilasyonu içeren çok sayıda epigenetik ve genetik değişiklikler tespit edilebilmektedir (11).

Mide karsinogenezinde epigenetik mekanizma olarak rol oynayan metilasyon, memeli DNA' sında gerçekleştiği bilinen tek kovalan olaydır ve yalnızca sitozin guanin (CpG) dinükleotidlerinde bulunan sitozinlerde meydana gelir. Kanser hücrelerinde tümör baskılayıcı genlerin, hücre döngüsünü kontrol eden ve apoptozisi önleyen genlerin, DNA onarım genlerinin ve gelişim sürecinde etkili yolların normal işlemlerini sağlayan genlerin hipermetilasyon ile susturulduğu bilinmektedir. Bugüne kadar kanserlerde hipermetilasyonu saptanan 90 kadar gen bulunmaktadır. Kanser hücrelerinde gen inaktivasyon mekanizması olarak promotor bölge hipermetilasyonu önem taşır. Promotor bölge hipermetilasyonunun sonraki kuşaklara aktarılabilmesi, ilgili gende kodlayan bölgede mutasyon olmaksızın genin ifadesini baskılayabilmesi ve gen ifadesini baskılamada kodlayan bölge mutasyonları ile aynı etkinlikte olması önem taşımaktadır. Ayrıca transkripsiyon faktörlerinin promotora bağlanmasını önleyerek genin susturulmasında da etkilidir (11,12).

Mide karsinogenezinde rol oynayan tümör supresör genlerin promotor metilasyonu ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Ancak Helikobakter pilori enfeksiyonuna bağlı veya bağlı olmadan gelişen intestinal metaplazi ve mide kanseri ile ilgili karşılaştırmalı bir metilasyon çalışması ve mide kanserlerinde GSTP1 (glutasyon s transferaz pi) geni ile ilgili araştırma yok denecek kadar azdır (13).

Kanserde mortalitenin düşürülmesinde en önemli basamak erken tanıdır, metilasyon değişiklikleri kanser oluşumunu erken basamaklarında

oluşabilir, bu nedenle metilasyon kalıbı değişikliklerinin incelenmesi mortalitenin azaltılması yönünden de umut verici olacaktır.

Bu anlamda mide karsinogenezisinde rol oynadığını düşündüğümüz GSTP1 geni promotor metilasyonunu saptayarak mide kanserindeki GSTP1 geninin dağılımını saptamak; Helikobakter pilori pozitif ve negatif intestinal metaplazili hastalardaki GSTP1 geni metilasyon farklarını karşılaştırmak, intestinal metaplazili grup ile mide kanseri hastalarındaki metilasyon farklılıklarını karşılaştırılmak amaçlanmıştır. Sonuç olarak kanseröz ve prekanseröz metilasyon profilini saptayarak mide kanserinin erken teşhisi ve tedavisi açısından yarar sağlanması amaçlanmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

2.1. Helikobakter Piloni

1983 yılında Barry Marshall ve Robin Warren tarafından mide biyopsi örneklerinde üretilmiştir. İlk olarak Campilobakter benzeri mikroorganizmalar olarak isimlendirilmiş, sonrasında özellikle antrumda yerleşmesi nedeni ile Campilobakter Piloni adını almıştır. Ancak farklı enzimatik ve fonksiyonel özelliklerinin saptanması üzerine ve helikal görünümünün de etkisiyle Helikobakter Piloni (Hp) adını almıştır (14,15,16).

Hp'nin mikrobiyolojik özelliklerine bakıldığında gram (-), unipolar, kıvrımlı veya spiral, hareketli, küt ve yuvarlak uçlu, 4-6 unipolar kirpiğe sahip, mikroaerofilik bir bakteri olduğu görülür. Canlı vücudunda spiral şekilde olan bakteri, üremesinin uygun olmadığı koşullarda yuvarlak, düzensiz çubuk şeklindedir. Üreaz, katalaz ve oksidaz enzimleri mevcuttur ve zorunlu mikroaerofildir (17).

2.1.1. Helikobakter Piloni Epidemiyoloji

Ülkelerin gelişim düzeyine göre değişmekle birlikte dünya popülasyonunun yaklaşık yarısı Hp kolonizasyonuna sahiptir (18, 19, 20). Gelişmekte olan ülkelerde; örneğin Asya'nın doğusu, Latin Amerika'nın

bazı bölgeleri gibi, enfeksiyon çocukluk çağında edinildiği için 20'li yaşlardaki popülasyonun %80'i enfekte saptanabilmektedir (18,19). Bunun tersine Fransa, Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya gibi gelişmiş ülkelerde çocukluk çağında enfekte olma oranı düşük olduğundan 30-40'lı yaşlardaki popülasyonun enfekte olma oranı %30-40 civarındadır (20, 21, 22). Türkiye'de yapılan çalışmalarda gelişmekte olan ülkelere benzer şekilde erişkinlerde Hp (+)'liği %80-85 civarında saptanmıştır (23).

Hp ile enfekte olma riski yaş, sosyoekonomik düzey ve yaşanan ülke koşulları ile ilişkilidir (24,25). Aynı coğrafik bölgede yaşayan farklı gruplarda enfeksiyon prevalansı farklılığı sosyoekonomik durumla ilişkilendirilmektedir. (26). Bunun dışında genetik özellikler, hijyen durumu, aile içi yaşam alışkanlıkları da dağılımda etkili diğer faktörlerdir (27, 28, 29). Diğer bir demografik faktör ise cinsiyettir ve erkeklerde daha sık görülmektedir (30). Duodenal ülserli hastalarda %95 , gastrik ülserlilerde %70-80; ülseri olmayan dispepsili hastalarda saptanma oranı %50'dir (31).

Oportunistik bir bakteridir. Sıklıkla feko-oral yolla bulaşmasına rağmen kirli sular veya kontamine yiyeceklerle de bulaşabilir (32). Polonyalı erişkinlerde yapılan bir çalışmada gastrik Hp enfeksiyonu ile oral kavitede periodontal hastalığın birlikte olabileceği gösterilmiş ve oral transmisyon ve kolonizasyonuna işaret edilmiştir (33). Endoskopistler, üst gastrointestinal sistem salgıları ile temas eden sağlık personeli, diş hekimleri de risk gruplarını oluşturur (34).

2.1.2. Helikobakter Piloni Patogenez

Hp'nin patojenite özellikleri çok çeşitlidir. Konakçıda yerleşmesini sağlayan kolonizasyon faktörleri, kolonizasyonun devamı ve bakterinin

yaşamını sağlayan devamlılık faktörleri, mukozada hasar yaratan hastalık oluşturuvcu faktörler önemli özellikleridir (35).

Hp epitele yerleşmeden önce mukus yüzeyini geçmek zorundadır. Bunu flagelleri sayesinde sahip olduğu hareket yeteneği ve spiral şekli ile kolaylıkla yapar (17). Flagella ayrıca gastrik lümende hızlı hareket etmeyi ve böylece optimal pH'ı olan yüzeylere kolayca ulaşmasını sağlar (36,37). Hayvan çalışmalarında flageli olmayan mutant suşların virülen olmadığı saptanmıştır (17) Mukus tabakasını geçen bakteri fosfatidiletanolamin, gangliozid ve O kan grubu taşıyan kişilerde bulunan Lewis X antijeni gibi, özel bazı fosfolipidlere bağlanarak epitelyal hücreler arası sıkı bileşkelerde kolonize olur (38). Kolonizasyonda önemli diğer faktör mukus bariyerini zayıflatan bir proteaz ve doku kültüründe hücrelerde vakuolizasyona neden olan bir sitotoksin olan Vacuolating toxin (Vac A)'dır. Hp vakalarının %60' ında saptanabilmektedir (39).

Hp kolonizasyonu genellikle çocuklukta; enfeksiyon gelişimi erişkin yaşlarda olur. İnflamatuar ve immunolojik yanıtlar sonucu konakta akut gastrit, gastrik veya duodenal ülser, gastrik adenokarsinom veya lenfoma gelişebilir. İlk olarak gelişen akut gastrit ya spontan olarak iyileşir ya da kronik gastrite dönüşebilir. Antrum dominant kronik gastrit hipergastrinemi gastrik hiperklorhidri ve duodenal ülserasyonla sonuçlanabilir. Korpus dominant ise hipoklorhidri ve hipergastrinemiye bağlı atrofik gastritle birlikte gastrik adenokarsinoma neden olabilir (40, 41, 42).

Kolonizasyon sonrası üreaz enzimi mukozanın direnç mekanizmalarını bozarak direkt ya da immünolojik yolla hasar oluşturur (43). Direkt yol; enzimin bazik ortam oluşturarak bakterinin midenin asit ortamından korunmasını sağlar. Bazik ortam ayrıca G hücrelerinden gastrin salınımını uyarır ve artan asit sekresyonu gastrit oluşumuna katkıda bulunur (44).

İmmünolojik hasar ise kemotaksis etkisi, polimorf nüveli lökosit ve mononükleer hücre aktivasyonu, sitokin sekresyonu, reaktif oksijen radikalleri oluşumu yoluyla gerçekleşmektedir. Ancak bakterinin kendisi katalaz enzimi sayesinde reaktif oksijen metabolitlerinin etkisinden korunur (45).

En güçlü virulans faktörünün Cytotoxin associated gene A (Cag A) olduğu düşünülmektedir (46). Fonksiyonel dispepsili hastaların %60-70' inde, peptik ülserli hastaların ise tamamında Cag A pozitif Hp'nin kolonize olduğu gösterilmiştir (35). Batı ülkelerinde yapılan çalışmalarda Cag A pozitiflerde negatif olanlara oranla peptik ülser, atrofik gastrit, gastrik adenokarsinom sıklığı artmıştır. Batı toplumunda CagA pozitifliği %60' lar civarındadır. Doğu Asya gibi gastrik kanserin yüksek olduğu bölgelerde hemen hemen tüm vakalarda pozitif saptanmıştır. Yapılan invivo çalışmalarda farelerde transgenik Cag A ekspresyonunun gastrik epitelyal hiperplazi ve adenokarsinoma yol açtığı ve Cag A' nın gastrik kanser vakalarında bakteri kaynaklı onkoprotein gibi davrandığı belirtilmektedir (47,48).

Diğer önemli virülans faktörü olan Vac A'nın kültürü yapılan gastrik hücrelerde vakuollenme, hücre hasarı ve intraselüler permeabilite artışı yaptığı görülmüştür . Vac A geni(+) olanların ancak %30-60' ı ölçülebilir sitotoksin aktivitesine sahiptir (49). Bunun nedeni Vac A alellerindeki polimorfizmdir (50). Peptik ülserli hastalardan izole edilen Hp' lerin %60-70' i sitotoksin aktivitesi gösterirken, fonksiyonel dispepsi hastalarında bu oran %30-50' dir (35).

Dış inflamatuvar protein (outer membrane inflammatory protein-Oip A) Cag A ile ilişkili olarak eksprese edilen bir dış membran proteindir. Gastrik mukozadaki inflamatuvar yanıtı arttırmaktadır. Genellikle Doğu Asya

populasyonunda sık saptanan bu gen batı toplumlarında %50'den az oranda bulunur. Oip A duodenal ülserasyon ve gastrik kanser ile ilişkili bulunmuştur (51, 52).

Kan grup antijenlerine bağlanan adhesin (the blood group antigens binding adhesin-BabA) olarak adlandırılan bir dış membran proteini ise bab A2 geni tarafından kodlanır. Bu protein Lewis b, ABO, Lewis x/a antijenlerine bağlanarak etki gösterir. BabA1 ve BabA2 olarak iki aleli mevcuttur. Bab A2 fonksiyonel olarak aktif olandır (53-56).

Hp kolonize olduktan sonra kemotaktik proteinler salgılayarak çok sayıda nötrofil ve lenfositini enfekte alan toplar. Mononükleer hücreler IL (İnterlökin)-2, IL-6, IL8, Tümör nekroz faktör (TNF) ve serbest oksijen radikalleri salgılar. Nötrofiller de serbest oksijen radikalleri sekrete ederler. Bakteri, süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitesi ile bu maddelerin toksik etkisinden korunur (57). Hp enfeksiyonu sonrasında plazma hücreleri lamina propria tabakasını infiltre ederek Ig G (Immunglobulin) , Ig A ve Ig M sekrete ederler. Akut enfeksiyonda, reenfeksiyonda ve süperenfeksiyonda Ig M ; kronik enfeksiyonda Ig G saptanır (58).

2.1.3. Helikobakter Piloni Tanı Yöntemleri

Hp tanısı için kullanılan testler invaziv testler ve non invaziv testler olmak üzere iki gruba ayrılabilir:

A. Non-invaziv testler:

- Seroloji: Kronik enfeksiyonda Ig G her zaman, Ig A %80 olguda pozitif bulunurken Ig M saptanmaz. Antikor düzeyi kantitatif olarak ELİSA, kalitatif olarak immunoassay yöntemleriyle saptanır. İnfeksiyonun

varlığını araştırmada daha çok Ig G tayini tercih edilir. Tedavi izleminde tercih edilmezler çünkü normal düzeye inmeleri 6 ayı bulabilir (59).

- Dışkıda Hsp testi (Hp stoll antijenleri testi): İnsan dışkısında Hp antijenlerinin kalitatif saptanmasına dayalı bir testtir. Tedaviden 4 hafta sonra tedaviyi değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Non-invaziv olması ve erken sonuç vermesi avantajlarıdır. Duyarlılık %88, özgülük %95 olarak belirtilmektedir (60).
- Üre-Nefes testi: Hasta aç iken nefes örneği alınır. Sonra mide boşalmasını geciktirecek ilaç veya yiyecek verilir. Radyoaktif karbon ile işaretli üre ağızdan verilir. Hp ortamda pozitifse üreaz enzimi ile üreyi işaretli karbondioksit (CO₂) ve amonyuma çevirecektir. Bir saat içinde nefesle atılan işaretlenmiş CO₂ tespit edilir. Non invaziv, hızlı ve yapılması kolay bir testtir. Ayrıca bakterinin yamalı tarzda yerleşiminden etkilenmemesi de en büyük avantajlarındandır. Spesifitesi % 95 ve sensitivitesi %85' dir (61). Eradikasyon tedavisi sonrasında kullanılması en çok önerilen testtir. Ancak tedaviden bir ay sonra yapılması önerilmektedir.

B- İnvaziv testler:

- Hızlı üreaz testi: Ortamdaki ürenin Hp'nin üreaz enzimi tarafından amonyağa çevrilmesi ile değişen ortam pH'sının renkli bir belirteç ile gösterilmesi esasına dayanan bir testtir. Testin yapılması için endoskopi yapılmalı ve biyopsi alınmalıdır. Biyopsi açısından en uygun yer pilora 3-5 cm uzaklıkta olan antrum bölümüdür. Hp pozitifse ortam pH artar ve renk değişimi olur. Ucuz, yapımı kolay bir yöntemdir. Test bir saat içinde uygulanmazsa yalancı pozitiflik görülebilir. CLO (Campylobacter-Like Organism) test ilk kullanıma çıkan üreaz testidir. Test %85 duyarlılık ve %95 özgülük değerlerine sahiptir (61).

- Histolojik inceleme: Mikroorganizmayı gösterme yanında Hp yol açtığı patolojileri de göstermektedir. Hp, sıklıkla mukus veya mukoza tabakasında bulunur. En sık yerleştiği bölge antrum olmakla birlikte mide mukozasında yamalı bir dağılım gösterebilmektedir. Bu nedenle endoskopik biopsi örnekleri birden fazla sayıda alınmalıdır. Ayrıca biyopsi alınan alan da önem taşır. Yapılan çalışmalarda biyopsilerin korpus ve antrumun ortaları ile bu iki alanın küçük ve büyük kurvatura yakın bölümlerinden alınması gerekliliği savunulmaktadır. Histopatolojik inceleme %90' ın üzerinde duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (61).
- Kültür: Altın standart olarak kabul edilir. Uygun besiyerleri kanlı agar, çikolatalı agar, Columbia besi yeri, Skirrov besi yeri ve Thayer-Martin besi yeridir. Üreme için ortam ılık, nemli, mikroaerofilik olmalıdır. Kültür yönteminin duyarlılığı %70-95, özgüllüğü %100 olarak belirtilmektedir. Zaman alıcı ve pahalı bir yöntemdir. Hp büyüme gereksinimi ve metabolizmasını incelemek, potansiyel virülans faktörlerini belirlemek, antibiyotik duyarlılığı araştırmak gibi avantajları da mevcuttur (61).
- Polimeraz zincir reaksiyonu ve moleküler tiplendirme: Mukozal biyopsi örneklerinde, mide sıvısında ve dışkıda PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) ile Hp tesbit edilebilir. PCR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü %95' in üzerindedir (61). Moleküler tiplendirmede kullanılan teknikler arasında PCR-RFLP (kısıtlayıcı parçacık uzunluk polimorfizmi), yüksek yinelenebilirlik özelliği nedeni ile en yararlı yöntemlerden biridir (61).

2.1.4. Helikobakter Piloni ile İlişkili Hastalıklar

H. Piloni ile ilişkisi saptanan hastalıklar ; gastrit, duodenal ülser, gastrik ülser, mide kanseri, mukoza ile ilişkili lenfoid doku kaynaklı B hücreli lenfomalardır (62).

Hemen tüm Hp enfeksiyonlarında midede PNL (polimorfonükleer lökosit) infiltrasyonu ile birlikte hafif derece gastrit bulunur (63). Yıllık ortalama %1-3 oranında gastrit atrofik gastrite ilerleyebilir. Atrofiye gidiş korpus dominant tipte %31, antrum dominant tipte %45' lere varan oranlarda olabilmektedir (64,65).

Atrofik gastrit; gastrik glandların ve midede bulunan özel hücrelerin sayısının azalmasıyla karakterizedir. Atrofi lokalizasyonuna göre ikiye ayrılır: Korpus dominant, korpus ve antrumun birlikte tutulduğu multifokal atrofik gastrit. Multifokal atrofik gastrit Hp enfeksiyonlu kişilerde daha sık görülmekte ve eradikasyon sonrasında enflamasyonun düzeldiği belirtilmektedir (66).

Patolojik tanım olarak ülser; muskularis mukozaya kadar uzanan doku kaybı olarak tanımlanmaktadır (67). Duodenal ülser oluşumunda Hp' nin etkileri; gastrik asit salınımında artış, mukozal savunmanın yetersizliği ve bunlara bağlı uyarılmış olan immun yanıtın olduğu belirtilmektedir. Hp eradikasyonu sonrasında asit salgısının azalarak normale dönmesi de bu görüşü desteklemektedir. Gastrik ülser oluşumu ise kronik gastritin atrofik gastrite dönüşümü ve bu durumun ilerlemesi sonrasında meydana gelen intestinal metaplazinin gastrik ülser ve gastrik kansere ilerlemesi ile açıklanmaktadır (68).

Mide ektranodal lenfomaların en sık yerleşim yeridir. Normalde midede önemli oranda lenfoid doku bulunmazken Hp enfeksiyonu

sonrasında mide lamina propria bölümünde CD4 lenfosit ve B lenfosit birikimi olur. Antijen sunumu sonrasında T lenfosit aktivasyonu, B lenfosit proliferasyonu ve sonuçta lenfoid folikül oluşur. Gastrik MALToma (Lymphoma, Mucosa-Associated Lymphoid Tissue) Hp ile yakın ilişkili ve Hp seropozitifliği de gastrik lenfomalı kişilerde sıktır. İlişkinin en önemli kanıtı ise Hp eradikasyonu sonrası MALToma'nın gerilemesidir (69,70).

2.1.5. Mide Kanseri ve Helikobakter Piloni İlişkisi

Gelişmiş ülkelerdeki gastrik kanser oranları azalmış olmasına rağmen gastrik kanser ilişkili mortalite dünyada hala önemini korumaktadır (71, 72). Genel olarak Hp' nin gastrik kanser oluşumunda en sık etyolojik risk faktörü olduğu kabul edilen bir gerçektir (73,74).

Hp enfeksiyonu olanlarda mide kanseri için prekürsor lezyonların saptanma riski 4-9 kat artmıştır ve risk çocukluk çağında enfeksiyonla karşılaşarlarda daha yüksektir (75,62).

The International Agency for Research on Cancer (IARC) 1994 yılında yapılan toplantıda Hp insan karsinojeni olarak kanıt derecesine göre 'Grup 1= Kesin kanıt' olarak değerlendirilmiştir (76). Yapılan çalışmalarda takip süresine göre değişmekle birlikte Hp enfeksiyonu gastrik kanser riskini yaklaşık 2 kat arttırmaktadır (77-82). Japonya'da yapılan geniş çaplı bir çalışmada duodenal ülser , gastrik ülser, gastrik hiperplazi veya nonülser dispepsiye sahip 1526 hasta 7,8 yıl izlenmiştir. Hp pozitif grupta %2,9 gastrik kanser gelişirken Hp negatif grupta gastrik kanser gelişimi olmamıştır (77). Hp ve Cag A seropozitifliğinde gastrik kanser riskinde 2,28-2,87 kat artış olmaktadır (78). Çin populasyonunda yapılan çalışmada Hp eradikasyonu olmayan hastalarda gastrik kanser gelişim

insidansı yüksek olarak bulunmuştur (80). Forman ve ark çalışmasına göre gastrik kanserin yüksek olduğu ülkelerde Hp pozitifliği ve prekanseröz lezyonlar ile ilişkilendirilebilir (81).

Tüm Hp suşlarının aynı oranda karsinojenik olup olmadığı merak edilen konular arasındadır. Cag A taşıyanların gastrik mukozaya daha zararlı olması nedeniyle duodenal ülser ve gastrik kanser riskinde artışla daha fazla ilişkili olduğu belirtilmektedir (78,84). Hp pozitif gastrik kanseri olmayan hastalara göre Hp pozitif gastrik kanseri olan hastalarda Cag A pozitifliği 2-3 kat daha fazladır (83). Cag A' nın aminoasid dizilimine göre 4 çeşidi olduğu bildirilmektedir: A, B, C, D. Doğu ülkelerinde D tipinin baskın olduğu ve bu tipin kanserle daha sıkı bir ilişkiye sahip olduğu belirtilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda C tipinin de mide kanserine yol açtığı bildirilmektedir (85, 86).

İnsandan elde edilen Hp izolatlarında VacA geni analizleri iki sinyal sekansı: s1 ve s2; ayrıca iki orta bölge tipinin m1 ve m2 varlığını ortaya çıkarmıştır. Yapılan çalışmalarda s1 ve m1 alellerinin daha yüksek toksin seviyesi ve ağır epitel hasarı oluşturma potansiyeline sahip olduğu görülmüştür (87). Batı toplumunda yapılan çalışmalarda s1/m1 suşlarının gastroduodenal hastalık ve gastrik kanserle yakın ilişkili olduğu belirtilmektedir (87,88).

Hp gastritinde; siklooksijenaz-2 (COX-2) proteini ekspresyonunda artış, sonrasında prostoglandin salınımı, IL-1 ve TNF- α genlerinde oluşan polimorfizmle birlikte bu sitokinlerin salınımında artış meydana gelir (47).

COX araşidonik asit metabolizmasındaki kilit enzimdir. İzoenzimleri COX-1, COX-2, COX-3'dür. Normal gastrik mukozada artmış COX-1 ekspresyonu görülür. COX-2 ise normal dokularda fark edilmeyecek düzeylerde bulunurken; hayvan ve insan malign hücrelerinde belirgin

olarak artmıştır. COX-2' nin in vitro olarak mutajenik ve tümörojenik olduğu belirtilmektedir. Ek olarak apoptozisi ve malign hücrelerin invazyon yeteneğini arttırdığı belirtilmektedir (89-91). Kültürü yapılan gastrik kanser hücrelerinin gastrin ve kolesistokinin-2 (CCK-2) reseptörü gen ekspresyonu arttığı ve artan gastrin konsantrasyonu ile bağlantılı olarak COX-2 ve hepatosit growth faktör (HGF) ekspresyonunun da arttığı görülmüştür (92). Cag A pozitif Hp suşları ile oluşan gastrik kanserlerde COX-2 düzeyi Cag A negatif olan gruba göre daha yüksek saptanmıştır (93). Gastrik kanser hücrelerinde COX-2 artışı ile birlikte prostoglandin-E2 (PG-E2) düzeyinin ve PG-E2 reseptörlerinin artmış olduğu ve gastrik kanserde COX-PG ilişkisi olduğu belirtilmektedir (91). PG baskın olarak T lenfositlerinden salınmakta; kronik enflamasyon ve neoplazi gelişimine katkıda bulunmaktadır (94).

Farelerle yapılan çalışmalarda Hp enfeksiyonu sonrasında çoğu hayvanda ılımlı gastrik inflamasyon gelişmiş ancak gastrik kanser görülmemiştir (95). Moğolistan kemirgenlerinde yapılan çalışmada ise Hp kolonizasyonu sonrasında insanlara benzer şekilde gastrik atrofi, intestinal metaplazi, displazi ve %37 hayvanda pilorik bölgede adenokarsinom olduğu görülmüştür (96). Yine aynı kemirgenlerle yapılan bir başka çalışmada Hp ile enfeksiyon sonrasında bazal gastrik asit seviyesinde azalma, plazma gastrin seviyesinde artış, somatostatin düzeyi ve Bcl-2 protein ekspresyonunda azalma, COX-2 ve Bax protein düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır. Bcl-2 azalması ve Bax artışı da karsinogenez oluşumuna katkıda bulunan faktörlerdendir (97).

Hp enfeksiyonu sonrası gastrik kanser oluşumunda growth faktörler de etkilidir. Hp enfeksiyonu sonrasında duodenal ülserli ve gastrik kanserli hastaların mukozasında gen ekspresyonu artışı ile birlikte epidermal

büyüme faktörü (EGF) ve Transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) artışı olduğu; eradikasyon sonrasında bu growth faktörlerin normal düzeye döndüğü gözlenmiştir. Aynı zamanda growth faktörlerin artışı sonucunda apoptotik proteinlerin oranının tersine döndüğü (Bcl-2 azalması, Bax artışı) ve bunun karsinogenez gelişimine etkili olduğu belirtilmektedir (98).

Farelerde Helikobakter felis ile enfeksiyon sonrası izlendiğinde gastrin seviyesi artışının başlangıçta gastrik asit seviyesini arttırmasına rağmen ilerleyen zamanlarda parietal hücrelerde azalma ile birlikte hipoklorhidri oluştuğu görülmüştür. Sonrasında gelişen gastrik atrofi ile birlikte EGF ve TGF- β düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Sonuçta bu hayvanlarda histolojik olarak gastrik metaplazi, displazi, karsinoma in situ ve vasküler invazyonla birlikte gastrik kanser geliştiği saptanmıştır.(99).

Anjiogenez kanser biyolojisinde kritik bir öneme sahiptir. Pek çok faktör etkili olmasına rağmen nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi kilit rolü oynar. Bu enzim primer tümör ve metastatik lenf nodlarından belirgin olarak salınır. Gastrik kanserli hastalarda bulunan yüksek miktarda nitrik oksit (NO) pro-anjiogenik sitokinlerin, örneğin vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), aktivitesini arttırarak anjiogeneze katkıda bulunur (100). Hp enfeksiyonu sonrasında oluşan kronik inflamasyon sonucu gastrik mukozadan iNOS ve çeşitli enzimlerin salınımı artmaktadır. Salınan diğer enzimler myeloperoksidaz, NADPH (nikotin amid adenin dinükleotit fosfat) oksidaz ve eosinofil peroksidazdır. Bu enzimler güçlü oksijen radikallerini üreterek mutasyon oluşumunu arttırarak kanser gelişimine katkıda bulunmaktadırlar (101).

Sonuç olarak Hp enfeksiyonu sonrasında gastrik kanser gelişimi çok basamaklı bir süreçtir. Karsinogenezde Hp'nin pek çok virülans faktörü

etkili olmaktadır. Cag A, VacA, çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve serbest oksijen radikalleri başlıca rolü oynamaktadır (102).

2.2. İntestinal Metaplazi

Mide mukozasının ışık ve elektron mikroskopik olarak bütün özelliklerini taşıyan intestinal epitel ile yer değiştirmesi intestinal metaplazi (IM) olarak adlandırılır (103). Midede en sık görülen metaplazi tipidir. Mide epitelinin mide asidinden korunması amacıyla oluştuğu düşünülmektedir (104).

IM' de normalde barsakta bulunan; mide mukozasında bulunmayan, goblet ve paneth hücreleri, emici hücreler, silialı hücreler bulunabilmektedir (103,105). Ancak hücrelerin tümü görülmeyebilir (106)

Tüm gastrointestinal kanal epitel hücrelerinin büyük çoğunluğu epitelyal müsin salgılar. Bu madde mukopolisakkarit yapıdadır ve kimyasal yapısına göre, histokimyasal boyanma yöntemleri ile farklı boyanan iki gruba ayrılır : Nötral ve asidik müsin. Midede baskın olan nötral müsin iken ince ve kalın barsaklarda ise asidik müsindir. İnce barsakta sialomüsinler , kalın barsakta ise sülfomüsinler ve o-asetil sialomüsinler daha yaygın olarak salgılanmaktadır (107). Antrum ve korpustan alınan ikişer biyopsinin intestinal metaplaziyi saptama değeri yaklaşık %25 olarak bildirilmektedir. Bu nedenle IM için haritalama yöntemi ve çok sayıda biyopsi alınması önerilmektedir (108).

2.2.1. İntestinal Metaplazi Tipleri

IM gruplandırması temelde histopatolojik ve histokimyasal özelliklere dayanmaktadır (106). Başlıca üç tipe ayrılır :

1. Tip I (Komplet Tip): Sıklıkla ince barsağa benzeyen, düz ve düzenli kriptleri vardır. Kriptleri matür absortif hücreler ve goblet hücreleri döşer. Müsin histokimyası ince barsağa benzer. Goblet hücreleri N-acetyl sialomüsin nadiren sülfomüsin sekrete edebilir. Absorptif hücreler mevcuttur ancak sekresyon yapmazlar. Genellikle paneth hücreleri de bulunur. İnkomples metaplazi tiplerinde hücreler fırçamsı kenardan yoksun iken komplet tip metaplazide metaplastik hücreler morfolojik olarak ince bağırsak enterositlerine benzer şekilde mikrovilluslardan oluşan fırçamsı kenar içerirler (108).
2. TipII veya Tip II A (İnkomples Tip): Kriptlerde hafif derecede biçim bozukluğu ve hafif düzensizlik mevcuttur. Kriptlerde goblet hücreleri ve kolumnar mukus hücreleri bulunur. Goblet hücreleri sialomüsin nadiren sülfomüsin sekrete ederler. Kolumnar hücreler ise genellikle nötral müsin sekrete ederler. Absorbtif hücreler çok azdır ya da yoktur. Paneth hücreleri çok nadir görülür (106).
3. Tip III veya Tip II B (İnkomples Tip): Hematoksilin Eosin ile yapılan mikroskopik incelemede epitel çoğunlukla hiperplastik kolon mukozasına benzer. Kriptlerde değişik derecelerde biçim bozukluğu görülür. Hücresel atipi ve farklılaşma bozukluğu TipII İM' den daha fazladır. Goblet hücreleri sialomüsin veya sülfomüsin salgırlar. Kolumnar hücreler ise genellikle sülfomüsin salgırlar ve çoğunlukla müsin ile doludur. Paneth hücrelerinin sayısı azalmıştır (106).

2.2.2. İntestinal Metaplazi Epidemiyoloji

1970 ve 1980'li yıllarda ileri evre mide kanserli hastaların cerrahi rezeksiyon materyalleri ve otopsi çalışmaları sonucu birlikte atrofik gastrit

ve intestinal metaplazi de olduğu saptanmıştır. Buna göre karsinogenezin aşamalı olduğu atrofi, metaplazi, displazi ve karsinoma sırasını izlediği hipotezi geliştirilmiştir ve Correa Kaskadı ismi verilmiştir (109-111).

IM sıklığının pek çok faktöre göre değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir. Bunlardan en önemlileri yaş, cinsiyet ve Hp pozitifliğidir(112).

1993 yılında yapılan bir çalışmada Hp pozitif grupta intestinal metaplazi % 65,5 saptanırken; Hp negatif grupta sadece %25 oranında saptanmıştır (113). Hp pozitif hastaların biyopsilerinde intestinal metaplazi prevalansı %10 ile %60 arasında değişmekte olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur (114).

IM sıklığının yaklaşık %10' lar civarında olduğu belirtilmektedir (115). Ülkemizde de bu orana benzer şekilde IM sıklığı; retrospektif patolojik inceleme yapılan bir çalışmada %9,8 ve kronik gastritli hastalarda %11,5 gibi oranlarda saptanmıştır (112,116). Ancak IM yüksek saptandığı çalışmalar da vardır. Hp pozitif ve negatif grupların oluşturulduğu bu çalışmada; Hp pozitif grupta %42, negatif grupta % 37 oranında IM saptanmıştır (117).

Doğu Asya'da yapılan bir çalışmada IM oranı erkeklerde %42,5 kadınlarda %32,7 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada Hp pozitif grupta IM %44,3, Hp negatif grupta IM %26,8 olarak saptanmıştır (118)

Batıda yapılan yakın tarihli çalışmalarda IM sıklığı %19 olarak belirtilmiş; alt tiplere bakıldığında %11 oranında en sık tip I IM olduğu görülmüştür (119). IM sıklığının yaşla birlikte arttığını gösteren çalışmalarda 50 yaş altında %10 olan IM' nin; 50 yaş üzeri grupta %32' ye yükselmiş olduğu belirtilmektedir (120).

2.2.3. İntestinal Metaplazi Etyolojisi

İntestinal metaplazinin mide mukozasının çevresel faktörlere adaptasyonu sonucunda geliştiğine inanılır. Oluşumu başlatan etken ve histogenezi henüz net olarak anlaşılamamıştır. Etyolojinin multifaktöryel olduğu düşünülmektedir. Suçlanan etyolojik faktörler arasında Hp enfeksiyonu, sigara kullanımı, C vitamini eksikliği ve diyetle yüksek miktarda tuz tüketimi bulunmaktadır (109, 121). Farelerde tuzun Hp kolonizasyonunu kolaylaştırarak kronik aktif gastrit ve glandüler atrofiye yol açtığı saptanmıştır (122). Hipoklorhidri ile birlikte bakteriyel aşırı çoğalma ve safra da İM gelişiminde etkilidir (123, 124). Deneysel olarak n-nitrozo bileşikleri ve X-ışınlarının da İM'ye yol açtığı gösterilmiştir (125).

Mukozal atrofi; gastrik mukozadaki gland sayılarının yetersizlik oluşacak derece azalmasıdır. Işık mikroskopunda mukozal fibrozis oluşumuyla birlikte glandüler ve/veya foveolar epitelin intestinal tip epitelle yer değiştirdiği görülebilir. Atrofi intestinal metaplazinin güçlü bir indikatörüdür. Atrofi ve intestinal metaplazi antral biyopsi örneklerinde (%75) korpusa göre daha sık olarak görülmektedir (126).

Hp enfeksiyonu negatif olanlarda önemli derece intestinal metaplazi nadirdir (113). Ancak Hp genellikle metaplastik epitel üzerinde saptanamadığı için goblet hücreleri tarafından üretilen asidik mukusun mikroorganizma için uygunsuz bir ortam oluşturduğu düşünülmektedir. (127). Yakın tarihli çalışmalarda Hp' nin özellikle inkomplet metaplazide metaplastik epitelde saptandığı bildirilmiştir. Komplet metaplazi tipinde ise intestinal enterositlerle tamamen aynı morfolojik özellikte olması nedeniyle Hp' nin bağlanacağı yüzey proteinleri bulunmamaktadır (128, 129).

2.2.4. Mide Kanseri ve İntestinal Metaplazi

Mide kanseri oluşumu bilindiği gibi çok basamaklıdır ve intestinal metaplazi de bu aşamalardan birini oluşturur. Slovenya' da yapılan on yıllık takip süreli bir çalışmada intestinal metaplazisi olan hastalarda olmayanlara göre mide kanseri riskinin on kat arttığı bildirilmiştir (130).

Gastrik kanser riski intestinal metaplazinin tipiyle de ilişkilidir. Özellikle Tip III varyantın; displazi ve erken mide kanseri alanları etrafında daha sık saptandığı belirtilmektedir. Bu hastalarda intestinal tip karsinoma gelişme riskinin yüksek olduğu saptanmıştır (130,131). Tip III IM'de tip I'e göre mide kanseri riskinin dört kat arttığı bildirilmiştir (132). Bu nedenle özellikle tip III intestinal metaplazide endoskopik takip yapılmasının uygun olacağı bildirilmektedir. Kesin bir zaman verilememekle birlikte tüm IM'li hastaların 1,5-3 yılda bir izlenmesinin uygun olacağı belirtilmektedir (133).

Cassaro ve arkadaşlarının çalışmasında kardiadan pilora kadar küçük kurvaturayı tutan intestinal metaplazi ya da tüm midede izlenen intestinal metaplazinin; fokal ya da antral intestinal metaplaziye göre daha yüksek mide kanseri riskiyle ilişkili olduğu bulunmuştur. (134).

Hp pozitif IM' de tüm mukozal bölgelerde proliferasyonun arttığı, apoptozisin ise sadece intestinal metaplazi olan alanlarda azaldığı bildirilmiştir. İM'de azalan apoptozis/proliferasyon oranının neoplazm gelişimine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (135).

Mide kanserli hastalarda intestinal metaplazi bulunan alanların komşuluğunda p53 mutasyonu %50 olarak saptanmıştır (136). Özellikle de Tip III intestinal metaplazi ve mide kanserine komşu intestinal metaplazi alanlarında p53 protein mutasyonu ve akümüasyonu bildirilmiştir (137).

Cox-2 mide, kolon, pankreas, meme kanseri gibi pekçok malignitede mevcuttur (138). İntestinal metaplazide Cox-2'nin kuvvetli olarak eksprese olduğu ve apoptozis inhibisyonundan sorumlu olduğu bildirilmektedir (139). Yine intestinal metaplaziyle birliktelik gösteren kronik gastritli olgularda Cox-2 ekspresyonu artışı bildirilmiştir (140).

4655 sağlıklı asemptomatik bireyin mide kanseri riski açısından ortalama 7.7 yıl süre takibi sonunda 45 hastada mide kanseri saptanmıştır. Buna göre en yüksek riskin yaygın intestinal metaplazi ile ciddi kronik atrofik gastrit gruplarında olduğu belirtilmiştir (141).

Tümör süpresör gen inaktivasyonu mekanizmalardan biri de CpG hipermetilasyonudur. Non-neoplastik 268 biyopsi materyalinin tarandığı çalışmada intestinal metaplazide hipermetilasyonun artmış olduğu saptanmıştır (142)

İM'nin Hp eradikasyonu, C vitamini ve çeşitli antioksidan tedaviler ile geriye dönebileceğini bildiren çalışmalar olsa da (143) genel kanı geriye dönüş olmadığı yönündedir. Bunun nedeni ise multifaktöryel etyolojik faktörlere bağlanmaktadır (124).

2.3. Mide Kanseri

Mide adenokarsinomu dünyadaki en yaygın malignitelerden biridir. Etiyolojisi multifaktöryeldir ve Hp, beslenme alışkanlıkları, çevresel ve %10 oranında genetik faktörler sorumlu tutulmaktadır . İnsidansı coğrafi varyasyonlar gösterir (1,2).

2.3.1 . Mide Anatomisi, Histolojisi ve Embriyolojisi

2.3.1.1. Midenin Anatomisi

Mide sindirim sisteminin en geniş kısmını oluşturan, J şeklinde , özefagus ve duodenum arasında ve karın boşluğunun sol üst kadranda yer alan organımızdır . Midenin superomedial sınırı küçük kurvatur, inferolateral sınırı büyük kurvaturdur. Posteriodan pankreas, böbrek, dalak, kolonun splenik fleksurası, kaudat lob, retroperitoneal arter ve sinirler komşuluğundadır. Ön üst yüzünün bir kısmı karaciğer sol lobunun arkasında bulunur (144-145).

Mide başlıca 5 anatomik bölümden oluşmaktadır. Bunlar sırasıyla: Kardia, fundus, korpus, antrum ve pilor olarak isimlendirilir. Midenin kardial bölümü, özofagusla birleşir. Bu iki bölümün birleşimi fizyolojik bir sfinkter oluşturur. Bu kısma alt özefageal sfinkter ismi verilir. Dinlenme halinde iken kapalıdır. Kubbe şeklinde olan fundus; genellikle gaz ile doludur ve diaphragma ile komşuluğundadır. Korpus midenin en büyük bölümüdür, insisura angularise kadar uzanır. Fundus ile korpus arasında belirgin bir sınır bulunmaz. Antrum pilor ve korpus arasında bulunan kısımdır. Pilor ise midenin duodenuma yakın olan bölümüdür ve distal sfinkteri oluşturur (146-147).

Mide; kan damarlanması zengin bir organdır. Küçük kurvaturda sol gastrik arter (çölyak trunkus dalı) ve sağ gastrik arter (ana hepatik arter dalı) ; büyük kurvaturda ise sağ gastroepiploik arter (gastroduodenal arter dalı) , sol gastroepiploik arter ve kısa gastrik arter (splenik arterin dalları) mideyi besler. Midenin venleri arterlerine eşlik eder ve portal sisteme

açılırlar. Kardia bölümündekiler ise özofagusun venleri ile anastomoz yaparlar (146-147).

Lenfatik damarlar mukozada derin interglandüler bölgeden başlayarak submuköz lenfatik ağlarını, kas tabakasını delerek subseröz ağlarını ve serozayı delerek mide dışı lenf yollarını meydana getirirler. Derin lenfatik damarlar erken mide kanserindeki lenfatik metastazı açıklamaktadır. Mide dışı lenf yolları mide arter ve venlerine komşu olarak seyreder (146-147).

Midenin innervasyonu sempatik ve parasempatik sinirler aracılığıyla olur. Parasempatik lifleri vagal sinirden, sempatik sinir lifleri çölyak pleksusdan kaynaklanmaktadır (146-147).

2.3.1.2 Midenin Histolojisi

Mide duvarı histolojik olarak içten dışa 4 tabakadan meydana gelir:

A. Tunika mukoza: Üç tabakadan oluşmaktadır:

- Epitel tabakası: Tüm mukoza mukus ve bikarbonat sekrete eden yüksek kolumnar epitel ile döşelidir. Yüzeyi ve gastrik çukurcukları örter ve mukus salgılar. Salgılanan bu mukus, hücreleri mide tarafından salgılanan kuvvetli asidin etkisinden korur. Yüzey ve foveolar hücrelerin etrafındaki sıkı bağlantılar da aside karşı engelin bir parçasını oluşturur. Lamina propria içine doğru olan uzantılar foveolaları oluşturur (150,151).
- Lamina Propria: Bazal membran altında, kollajen ve elastik lifler ile organize olmuş bir retikülin ağı ile yapısal destek sağlayan alandır. Fibroblastlar, histiositler, plazma hücreleri ve lenfositleri içeren çok sayıda hücre tipleri içerir. Ayrıca kapillerler, arterioller ve nonmyelinize sinir lifleri de burada bulunmaktadır. Lenfatikler ise

derin lamina propria da bulunur. Üst ve orta lamina propria da lenfatik yoktur (148-151).

➤ Muskularis Mukoza: Mukozanın alt sınırını oluşturur. Sirküler iç tabaka ve longitudinal dış tabaka içeren düz kasların ince bandlarından meydana gelmektedir (148-151).

B. Tunika submukoza: T.muskularis ve mukoza arasında bulunan kollajenden zengin bir tabakadır. Mide duvarının en sağlam bölümünü oluşturur. Damar, lenfatik ağ ve Meissner pleksusu bulunur (148-151).

C. Tunika muskularis: Düz kas liflerinden oluşur ve 3 tabakadır. Dış longitudinal, ortası sirküler, iç tabakada ise obliktir. Orta muskuler tabaka bütünü kaslardan oluşan tek mide duvarı katıdır, pilora doğru gidildikçe kalınlaşır ve sfinkteri oluşturur. Muskularis propria tabakasında otonomik sinirler ve Auerbach myenterik pleksusu bulunmaktadır (148-151).

D. Tunika seroza: Mide duvarının en dış tabakasıdır ve ince gevşek bağ dokusu yapısındadır. Dıştan mezotelyum ile örtülür. Mezotelyumun devamını ise periton oluşturmaktadır (148-151).

2.3.1.3 Midenin Embriyolojisi

Mide; özefagus taslağının hemen altında primitif sindirim kanalının ön bağırsak kısmından tübüler bir yapı olarak gelişen endodermden oluşur. Gebeliğin 4. haftasında, ön barsağın fusiform genişlemesi şeklinde belirir. Sonraki haftalarda, şekil ve pozisyon, farklı bölgelerindeki farklı büyüme hızı ve çevresindeki organların pozisyonlarında meydana gelen değişiklikler sonucu önemli ölçüde değişime uğrar. Uzun eksenini etrafında saat yönünde 90 derece dönmesi büyük ve küçük kurvaturaların

oluşumuyla sonuçlanır. Mukozanın erken glandüler differansiasyonu fetus boyu 80 mm'ye ulaştığında oluşur. Enzim ve asit üretimi ilk olarak fetal hayatın 4. ayında oluşur. Yenidoğandaki mide tamamen erişkininkine benzemektedir (152).

2.3.2. Mide Kanseri Epidemiyolojisi

Dünya çapında görülen tüm kanserlerin yaklaşık %10' unu oluşturur (153). Mide kanseri insidansı ülkeler arasında değişiklik göstermektedir. Özellikle Japonya'da hastalık epidemik boyutlardadır (154, 155). Yüksek riskli bölgeler Asya, Güney Amerika, ve Batı Avrupa iken ; düşük riskli bölgeler Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve çoğu Afrika ülkesidir (156,157). Düşük ve yüksek risk bölgeleri arasında kanser görülme sıklığı açısından 10-20 kata kadar fark olduğu bildirilmektedir (158).

Ülkemizde ise bölgelere göre farklılık gösterir (159). Türkiye'de gastrointestinal kanserler arasında ilk sırada iken, tüm kanserler arasında dördüncü sırada yer alır (1). Sağlık Bakanlığı 1995 yılı istatistiklerine göre insidansı yüzbinde 4,4 iken, Erzurum ve Van'da mide kanseri erkeklerde ilk sırayı, kadınlarda ikinci sırayı almaktadır (160, 161). 1999 yılında Sivas kanser kayıt merkezinin verileri değerlendirildiğinde; mide adenokarsinomlarının, Sivas ilindeki kanser olguları arasında hem erkeklerde, hem de kadınlarda %15.8 lik görülme sıklığı ile ilk sırada yer aldığını tesbit edilmiştir (162). 1992 yılında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'na gelen tüm malign olgular arasında mide kanserlerinin, deri ve mesane kanserlerinden sonra üçüncü sırada yer aldığı, bu olguların da, %95.3'ünün histopatolojik tipinin adenokarsinom olduğu bildirilmiştir (163).

Asya ülkelerinde yüksek insidans ve mortalitenin diete bağlı faktörlere, özellikle de tuzlu ve nitratlı besin tüketimine bağlı olduğu düşünülmektedir. Yüksek oranda tuz tüketimi mide irritasyonu ve atrofik gastrit gelişimine yol açmakta ve ayrıca aşırı hücre replikasyonuna yol açarak nitratlı besinlerin mutajenitesini arttırmaktadır (156, 157).

Batı toplumlarında mide kanseri hızında bir azalma olduğu bildirilse de en çok ölüme neden olan kanserler sıralamasında ikinciliğinin devam etmekte olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (164). Birleşik Devletler' de 1930-1985 yılları arasında mide kanseri insidansının azalarak sabitlendiği görülmüştür. Bu durumun intestinal tip karsinom insidansındaki azalmaya bağlı olduğu bildirilmektedir. İntestinal tip mide kanserinin azalmasında besin koruyucularının kullanımının azaltılması, taze ürünlerin elde edilebilirliğinin artması ve Hp eradikasyonunun etkili olduğu savunulmaktadır (165).

Mide kanseri hemen hemen tüm ülkelerde erkeklerde kadınlara oranla 1.5-2.5 kat daha fazla görülmektedir (166). Mide kanseri 30 yaşından önce nadirken beşinci dekattan sonra görülme sıklığı artar (167). 50 yaş sonrası görülme sıklığı erkeklerde 2 kat fazla iken, daha genç yaş grubunda kadın/erkek oranı eşittir (168).

Son yıllarda kardiyak bölgedeki proksimal mide tümörlerinin insidansında artış olduğu ve bu duruma Barret özafagus insidansındaki artışın neden olduğu sanılmaktadır (166).

2.3.3 Mide Kanserinde Etyolojik Faktörler

Mide kanseri etyolojisinde pek çok faktör rol oynamaktadır :

Çevresel faktörler ve diyet: Yüksek riskli bölgelerden düşük risk bölgelere göç eden ırklar incelendiğinde zamanla mide kanseri insidansının belirgin biçimde azaldığı saptanmıştır. Neden tam olarak bilinmese de diyet faktörü üzerinde durulmuştur (167). Özellikle hayvansal protein ve vitaminlerden fakir, nişastadan zengin diyetlerin mide kanserine zemin hazırladığı belirtilmektedir. Tütsülenmiş etler benzopren gibi polisiklik hidrokarbonlar içermesi nedeniyle karsinogeniktirler. Atrofik gastrit beraberindeki akloridi nitrozamin oluşumuna predispozisyon sağlar ve karsinogenezde rol oynar (169). Karbonhidrat, turşu, tuzlanmış et ve balık mide kanseri riskini artırırken süt, taze sebzeler, yüksek vitamin C tüketimi riski azaltmaktadır. Mide kanserinin yüksek olduğu bölgelerde yüksek tuz tüketimi olması; tuzun kanser yapıcı etkisinin araştırılmasına neden olmuştur. Kronik gastrit ve sonrasında atrofik gastrite neden olduğu düşünülmektedir (170-172). Nitrit ve nitratlar da mide kanseri oluşumunda etkili bileşiklerdir. Nitratlar, kurutulmuş tahıllar ve gıda koruyucularında; nitritler ise et ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu bileşikler nitrozaminleri meydana getirerek sıçanlarda mitojenik ve karsinogenik olduğu gösterilmiştir (173).

Hp ile İnfeksiyon: Mide epitelyum DNA (deoksiribonükleik asit)'sı mutasyonu, serbest oksijen radikalleri artışı, IL düzeyleri değişimi, sitoprotektif maddelerin azalması ve mide mikroçevresinin değişmesi gibi etkiler displazi ve zamanla gastrik kanser gelişimine yol açmaktadır (174).

İyonize Radyasyon: İyonize radyasyonun mide kanseri riskini 2-4 kat artırdığını belirtilmektedir (175). Hodgkin lenfoma nedeniyle radyoterapi alan hastaların izleminde kanseri geliştiği bildirilmiştir (176).

Sigara ve Alkol Kullanımı: Sigara içimi ile ilgili bilgiler çelişkilidir. Bazı araştırmalarda doza bağımlı kanser riski arttığı belirtilirken bazılarında

kanser riskini arttırmadığı belirtilmektedir. Mide kanserine yakalanma riskinin alkol içenlerde, içmeyenlere göre 2 kat fazla olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (175).

Pernisiyöz Anemi: Pernisiyöz anemi ya da parsiyel gastrektomi sonucu meydana gelen hipoklorhidri ile anaerobik bakteriler midede aşırı çoğalmakta ve bu bakteriler nitratları nitritlere çevirerek mide içi nitrit, N-nitrozo bileşikleri ve safra asitleri konsantrasyonlarında artışa neden olmaktadır. Sonuç olarak gelişen kronik gastrit zemininde displazi ve karsinom olasılığı artmaktadır (175).

Düşük Sosyoekonomik Düzey: Kötü hijyenik koşullar ve çevre kirliliği mide kanserinin daha sık görülmesine neden olmaktadır (175).

Kişisel Faktörler: A kan grubu olanlarda mide kanserinin daha sık olduğu gözlenmiştir (175).

Atrofi, metaplazi, displazi: Kronik atrofik gastrite; atrofi ile birlikte intestinal metaplazi de değişik oranlarda eşlik edebilmektedir ve bu hastaların %10' unda 20 yıl içinde mide kanseri geliştiği görülmüştür (177). Prekanseroz lezyon olan displazi erken evre mide kanserlerinde %40-100 arasında ve ilerlemiş evre mide kanserinde %5-80 oranında görülebilmektedir (108).

Genetik faktörler: Herediter nonpolipozis koli, kanser sendromları (Lynch sendromu II) ve daha az derecede Li- Fraumeni sendromu, Peutz-Jeghers sendromu, familyal polipozis koli sendromuna sahip bireylerde mide kanseri riski artmıştır. Ailesinde mide kanseri olanlarda da riskin 2-3 kat arttığı belirtilmektedir (178).

2.3.4. Mide Kanseri Sınıflandırılması

Mide kanseri çok farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Mide tümörleri arasında en sık rastlanılan adenokarsinomdur (%90-95). Sırasıyla lenfomalar (%4), karsinoidler (%3) ve mezankimal içsi hücreli tümörler (%2) gelmektedir (179).

Adenokarsinomlar, Lauren sınıflamasına göre ikiye ayrılır: intestinal tip ve diffüz tip. İntestinal tip (diferansiye); gland benzeri tubüler yapılar oluşturan, koheziv neoplastik hücrelerden oluşur ve genellikle ülser olur. Diffüz tip (indiferansiye); hücre kohezyonu yoktur, mide duvarında belirgin bir kitle oluşturmadan infiltre olur ve kalınlaşır. İntestinal tip erkek cins ve daha ileri yaşlarda siktir. Diffüz tip ise genç yaş gruplarında daha sık olarak görülebilir (156, 180). İntestinal tip mide kanserleri % 60-80' i antrum küçük kurvaturda gelişir (181).

Tedavi ve prognoz açısından en önemli sınıflama invazyon derinliğine göre yapılan erken ve ileri evre gastrik karsinom sınıflamasıdır. Erken evre gastrik tümörün lenf ve hematojen yol ile yayılım derecesine bakılmaksızın tümörün sadece mide mukoza ve submukozasında sınırlı olmasını ifade eder. İleri evre ise submukoza tabakasını aşmış, muskularis eksternayı infiltre etmiş ve bu tabakayı aşmış karsinomları belirtmektedir. İleri evre gastrik karsinom, erkek cinsiyet ve orta-ileri yaştakileri etkileyen bir neoplazmdir. Bütün mide kanserlerinin erken lezyonlar şeklinde başlayarak ilerlediği düşünülmektedir (165,169).

Mide kanserlerinin lokalizasyonlarına bakıldığında; %50-60 pilor-antrum, %25 kardial, geri kalan kısmın ise korpus ve fundusda saptandığı görülmektedir. Küçük kurvatur %40, büyük kurvatur %12 oranında

tutulum göstermektedir. Sonuç olarak en sık etkilenen bölgenin antral-pilorik bölgenin küçük kurvatur bölümü olduğu söylenebilir (169,179).

Mide kanserleri sınıflandırılması Tablo 1’de gösterilmektedir.

Tablo 1: Mide Kanseri Sınıflandırılması

Sınıflandırma	
Lokalizasyonuna göre	<ul style="list-style-type: none">• Pilor-antrum bölgesi• Kardiya bölgesi• Korpus-fundus bölgesi
Diferansiyasyon derecesine göre	<ul style="list-style-type: none">• İyi diferansiye• Orta diferansiye• Az diferansiye
İnvazyon derinliğine göre	<ul style="list-style-type: none">• Erken evre• İleri evre (invaziv)
Borrmann sınıflaması	<ul style="list-style-type: none">• Tip I (polipoid)• Tip II (ülseröz)• Tip III (ülsero-infiltratif)• Tip IV (diffüz infiltratif)
Dünya sağlık örgütü(WHO) sınıflaması	<ul style="list-style-type: none">• Tubuler adenokarsinom• Papiller adenokarsinom• Müsinöz adenokarsinom• Taşlıyüzük hücreli karsinom
Lauren sınıflaması	<ul style="list-style-type: none">• İntestinal tip• Diffüz tip• Mikst tip

2.3.5. Mide Kanserinde Klinik ve Laboratuvar

2.3.5.1 Mide Kanserinde Klinik

Mide kanseri erken evrede %80'den fazla oranda asemptomatiktir, bu nedenle tanısı gecikir (166, 168, 169, 179). Semptomatik hastalarda en sık görülen şikayetler epigastrik ağrı, bulantı, kusma ve halsizliktir. Erken evre mide kanserleri genellikle tarama programlarında ya da mide şikayeti sonucu yapılan endoskopik incelemeler neticesinde saptanmaktadır (166).

Kitlenin bulunduğu yere göre hastanın şikayetleri çok farklı olabilmektedir bu da tanıyı zorlaştıran durumlardandır (181). Kardiyadaki tümörler yutarken takılma hissi, prepilorik yerleşimli tümörler ise sıklıkla bulantı, kusma ile başvururlar. Kilo kaybı ve iştahsızlık en sık rastlanan şikayetlerdir, yaklaşık % 70-80 hastada mevcuttur. Epigastrik ağrı (%70) da görülebilir ve peptik ülserle karışabilir. Sürekli ağrı ileri evre mide kanserinin göstergesi olabilir. Hastalar nadiren hematemez, melena ile de başvurabilirler ancak gizli kanama daha sıktır (169,179). Karaciğer metastazına bağlı hepatomegali ve sarılık, periton metastazına bağlı asit, gizli kan kaybına bağlı anemi, beyin metastazına bağlı nörolojik bulgular, vertebra ve sinir metastazlarına bağlı sırt ağrıları da görülebilir (166, 168, 169).

2.3.5.2 Mide Kanserinde Laboratuvar

Mide kanserinin spesifik bir laboratuvar bulgusu yoktur. Erken evre kanserlerde sıklıkla tahliller normaldir ancak ilerleyen evrelerde anemi, ALP ve bilirubin artışı görülebilir. Gaytada gizli kan da sıklıkla pozitiftir.

Henüz mide kanserine spesifik tanı, takip ve prognoz belirlenmesinde kullanılabilecek bir belirteç tespit edilememiştir. Karsinomoembriyojenik antijen (CEA) erken evre kanserlerde normalden ileri evrelerde %30 oranında yüksek olarak saptanabilir (169,182).

2.3.6. Mide Kanserinin Tanısı

Mide kanseri tanısında tercih edilen en seçkin yöntem endoskopidir. Görülen lezyondan şüphelenilse de kesin tanı için patolojik incelemeler gereklidir. Özafagogastro-duodonoskopi endoskopik biyopsi ile kombine edildiğinde sensitivite ve spesifitesi yüksek olmaktadır. Her lezyondan 10 veya daha çok sayıda biyopsi alınması ile tanısal doğruluk oranı %100'lere ulaşabilir. Doğru tanı oranı direkt olarak biyopsi sayısına bağlıdır (166, 169).

Şüpheli lezyonların fırçalanması ile alınan örneklerden sitolojik inceleme yapılarak da tanı konulabilir ancak doğruluk oranı %80 civarındadır. Yine ilerlemiş gastrik kanserlerde gastrik aspirasyon ile elde edilen malign hücrelerin de sitolojik incelemesi mümkün olmakla birlikte doğruluk oranları %40-90 arasındadır. Hem sitolojinin, hem de biyopsinin doğru sonuçlanmasını engelleyen temel neden yeterli materyalin alınmamasıdır (166,169).

Kontrastlı baryum grafisi ekonomik, non invaziv ve kolay uygulanabilir bir yöntemdir. Gastrik lezyonun benign ya da malign özellikler gösterip göstermediğini belirlemede sınırlı bilgi sağlayabilir. Ancak geç evre kanserlerde %90 oranında tanı sağlayabilir (166).

Bilgisayarlı Tomografi (BT) mide kanserinin başlangıç tanısından çok metastaz değerlendirilmesi ve tedavinin belirlenmesi için tercih edilir. BT taraması 5 mm çapından daha büyük karaciğer metastazlarını belirlemek için faydalıdır. BT 5 mm'den daha küçük soliter akciğer yada karaciğer metastazlarını belirlemede güvenilir değildir. Manyetik rezonans (MR)' ın mide karsinomunu değerlendirmedeki rolü sınırlı olup; karaciğer metastazını saptamada bilgisayarlı tomografiye göre daha duyarlıdır (166,169).

Endoskopik ultrasonografi ise tümör invazyonunun derinliğini saptamada ve mide komşuluğundaki lenf düğümünü değerlendirilmesinde çok yararlıdır (166).

2.3.7. Mide Kanserinin Tedavisi

Tedavi kararı vermek açısından önemli noktalar vardır. Bunlar tümör evresi (Tablo 2), tümörün yeri ve eşlik eden hastalıklardır (183).

Cerrahi tedavi: Tanı konulan hastaların %85'ine cerrahi tedavi uygulanmakla birlikte bunların ancak yarısı küratif cerrahidir. Küratif olanlar evre T1/2 olanlardır. T3 ve sonrasındaki evrelerde ise palyatif cerrahi uygulanabilir. Kalan %15 hastaya ise hastalığın evresi ya da ameliyat riski nedeniyle cerrahi uygulanmamaktadır (166,183).

Tablo 2: Mide adenokarsinomlarında AJCC TNM sınıflaması

Primer tümör T Tx: Primer tümör değerlendirilemeyebilir T0: Primer tümörün bulguları yok Tis: İn situ kanser: İntraepitelyal tümör, lamina propriaya invazyon yok T1: Tümör lamina propriaya veya submukozaya invaze T2: Tümör müskülaris propriaya veya subserozaya invaze T3: Tümör serozaya (visseral periton) invaze ancak çevre yapılara invazyon yok T4: Tümör çevre yapılara invaze
Bölgesel lenf bezi tutulumu Nx: Bölgesel lenf bezi değerlendirilemeyebilir NO: Bölgesel lenf bezi metastazı yok N1: 1-6 bölgesel lenf nodunda metastaz mevcut N2: 7-15 bölgesel lenf nodunda metastaz mevcut N3: 15'den daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı mevcut
Uzak metastaz Mx: Uzak metastaz değerlendirilemeyebilir MO: Uzak metastaz yok M1: Uzak metastaz var

Midenin geniş ve yaygın lenfatik ağı nedeniyle cerrahi yaklaşımda diffüz tipte primer lezyonun proksimal ve distal 8 cm kısmı, intestinal tipte proksimal ve distal 5 cm kısmı da rezeksiyona katılır. Lenf nodu tutulumunun prognozu kötüleştirmektedir. Lenfadenektomi uygulandığında operatif mortalite ve morbiditede artma olmaksızın prognozda ümit verici

sonuçlar alınmıştır. Sadece perigastrik lenfadenektomiye D1, beraberinde suprapankreatik lenf nodlarının da çıkartılmasına D2 ismi verilir. 11 yıllık izlem sonunda D2'de survey %47, D1'de ise %33 olarak bulunmuştur (166,183). Günümüzde operatif mortalite oranı %1-3'den daha düşük olduğu kaydedilmektedir. Postoperatif en yaygın komplikasyon rekrrensdir (166).

Erken evre mide kanserinin cerrahi sonrası 5 yıllık sağ kalımın %90' dan fazla olduğu belirtilmektedir. Ancak tümör penetrasyonu ve lenf nodu metastazı durumunda survey anlamlı olarak azalır. Erken mide kanserinde endoskopik mukozal rezeksiyon yöntemi de son yıllarda giderek yaygınlaşmaktadır. Prognozu iyi olan bu yöntem sayesinde cerrahi yapılmadan küratif tedaviler elde edilebilmektedir. Mukozektomi endikasyonları; tümör 2 cm'den küçük olması, yüzeyel olması ve diferansiye olmasıdır. Ancak bu işlemden önce mutlaka endoskopik ultrason ile submukoza dışına taşmasının olup olmadığı kontrol edilmelidir (166, 183, 184).

Radyoterapi: Mide kanserli hastalarda lokal bölgesel kontrollü radyoterapiye klinik yanıtın değerlendirildiği az sayıda çalışma mevcut olup; tedavi rejimi 45-50 Gy (Gray) dozunda 20-30 fraksiyon olması önerilmektedir. Sağ kalım üzerine anlamlı avantajlı olduğu düşünülmektedir (166,183).

Kemoterapi: Adjuvan ve neo-adjuvan olarak uygulanabilir. Adjuvan kemoterapinin surveyde çok belirgin artış yapmadığı ancak kemoterapi ve radyoterapi birlikte uygulandığında surveyde anlamlı uzama olduğu belirtilmektedir (183). Küratif cerrahi olanağının bulunmadığı ileri evre mide kanserlilerde tek ajan kemoterapiye göre çoklu tedavilerin daha

yararlı olduğu belirtilmektedir. Çoklu kemoterapi Őemaları (5-Florourasil, Cisplatin, Capesitabin, Etoposid, Doxorubicin) denenmektedir (166,183).

2.4. Kanser Gelişimi

Kanser, hücrenin normal davranışlarını düzenleyen mekanizmaların bozulması sonucu, hücrelerin kontrolsüz biçimde sürekli bölünerek çoğalması, normal doku ve organları istila etmesi ve tüm vücuda yayılması ile karakterize hastalıklar grubudur. Kanser anormal çoğalan tek bir mutant hücreden gelişir ve normal hücrelerden farklı olarak sınırsız çoğalma yeteneği vardır (185,186).

Hücresel düzeyde kanser, mutasyonları içeren çok aşamalı bir süreç sonunda çoğalma, sağ kalım, invazyon ve metastaz yetenekleri artan hücrelerin seçilmesi şeklinde ortaya çıkmaktadır. Bir tek hücrenin anormal çoğalmasına neden olan genetik bir değişiklik ve mutasyon bu çok aşamalı sürecin başlangıcını oluşturur. Mutasyon nedenleri kimyasallar, radyasyon, virüsler gibi çevresel ajanlar ya da kalıtsal olabilir (185,186).

2.4.1. Kanserın Yayılımı

Kanser hastalarında tedavi yetersizliği ve mortalitenin en büyük nedeni tümör invazyonu ve metastazdır. Genellikle normal hücreler vücuttaki yerlerini korurken kanser hücreleri kaynaklandıkları yerden uzağa yayılmaktadırlar. Preinvaziv dönemde tespit edilen kanserlere 'karsinoma in situ' denir. Kanser hücresi bazal membranı geçmemiştir (186). İnvazyon, komşu dokuya yayılım; metastaz ise primer odakla aralarında bir devamlılık olmaksızın kanserin vücudun başka doku ve organlarına

yayılması olayıdır. Metastaz primer tümörün en erken evresinden itibaren oluşabilmekte ve tümörün büyümesine paralel olarak büyüebilmektedir. Metastaz oluşumunda tümör hücreleri önce interstisyel stromaya girer, sonrasında kan damarları yoluyla dolaşıma katılırlar. Hedef organa ulaştıktan sonra organın prekapiller venüllerinde endotel bazal membranına penetre olarak metastatik kolonileri oluştururlar (187).

Tümörlerin tiplerine göre metastaz yapma özellikleri değişkenlik gösterir. Genellikle hücre yükü fazla, kötü diferansiye ve hızlı büyüyen malign tümörlerin metastaz yapma özellikleri daha fazladır (186).

Metastaz açısından iki önemli özellik bulunmaktadır. Birincisi malign hücrelerin hücre dışı matriks bileşenlerini parçalayan ve kanser hücresinin normal komşu dokusunun içine girmesini sağlayan proteazlardır. İkincisi ise anjiyogenezi hızlandıran büyüme faktörleridir. Anjiogenez hem tümör büyümesi açısından hem de metastaz açısından önem taşımaktadır. Normal hücrelerin de oksijen ve besin sağlamak için kan damarlarına gereksinimi vardır ancak erişkinde dolaşım mimarisi sabittir. Kanser hücreleri anjiyogenezi uyarmasının nedeni tümör sağkalımı ve yayılımı için yeni kan damarlarına ihtiyaç olmasıdır (185,186). Anjiogenezis normal koşullarda embriyo gelişimi, yara iyileşmesi ve organ hipertrofisi gibi dönemlerde görülmektedir. Anjiogenezis neoplastik olayların etyopatogenezinin ve özellikle büyüme ve metastaz yapmasından sorumlu tutulmaktadır (188). Kanserler ; üç şekilde yayılım gösterir:

- Vücut Boşlukları ve Yüzeyleri Yoluyla Yayılma: Malign tümörlerde tümör kitlesinden kopan hücreler vücut boşluklarını çevreleyen yüzeylere ulaşarak vücut boşluğundaki komşu doku ve organlara yayılabilmektedir. Özellikle over kaynaklı kanserlerde görülür (189).

- Lenf Damarları Yoluyla Yayılma: Karsinomlar genellikle bu yolla yayılım göstermektedir. Kanser hücreleri bölgesel lenf düğümlerine ulaştıktan sonra burada tutulur. Lenf düğümleri yayılımı engellemeye çalışırlar, ancak bir süre sonra kanser hücreleri burada yerleşip büyümeye neden olurlar (189).
- Kan Damarları Yoluyla Yayılma: Sarkomlar sıklıkla bu yolla yayılırlar. Özellikle venöz damarların çeperi kanser hücreleri tarafından kolayca invaze edilebilir ve koparak kan akımına karışan kanser hücreleri başka organ ve dokulara yayılabilir. Kan dolaşımı yoluyla metastazlar en sık karaciğer ve akciğerde görülür. Tiroid folliküler karsinom, Renal hücreli karsinom ve hepatosellüler karsinom hematojen yolla yayılan kanserlerdir (189).

2.4.2. Kanser Genetiği

Her hücre genetik bir programlamayla doğar. Gerekli durumlarda proliferasyon, diferansiyon, yaşlanma ve ölüm gibi işlemleri meydana getirir. Temel sorun hücre proliferasyon kontrolünün kaybıdır (186).

Kanser oluşumunda etkili başlıca üç tip gen mevcuttur:

1. Onkogenler: Protoonkogenler, normal hücre büyümesi ve çoğalmasını kontrol etmekte olan proteinleri kodlayan genlerdir. Protoonkogenler kendiliğinden ya da dış mutasyonlar sonucu farklılaşmaya ve normalden fazla ifade edilmeye başlarsa bu o hücrede kontrolsüz büyümeye neden olur. Sonuçta malignensi meydana gelir. Onkogenlerin büyük kısmı hücre çoğalması ve farklılaşmasının kontrolü ile ilişkili protoonkogen denen normal genlerin mutasyona uğramış formlarıdır (185,186).

Onkogenler, onkoprotein adı verilen proteinleri kodlar. Onkoproteinlerin çoğunluğu büyüme faktörlerinden gelen uyarılar sonucunda; hücre çoğalması ve sağkalımının düzenleyicisi olarak görev yaparlar. Bu proteinler: Polipeptid büyüme faktörleri, büyüme faktörü reseptörleri, hücre içi sinyal yollarının üyeleri ve transkripsiyon faktörleridir. Bu proteinlerin aşırı ekspresyonu ya da aktivitelerinde artış kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasına neden olabilmektedir (186, 190).

2. DNA (Deoksiribonükleik asit) tamir genleri: Mutajenik kimyasalların ve ışın gibi ajanlar nedeniyle meydana gelen DNA hasarını tamir eden genlere DNA tamir genleri adı verilir. Bu genler hücredeki genomik yapının korunmasından sorumludur. DNA tamir genlerinin fonksiyonu mutasyonel hasar veya DNA replikasyonunun her ikisinde oluşan DNA hataları ile bağlantılıdır. Hata tamir edilmezse, bu genler apoptozisi indükler veya DNA hasarını tamir eder. DNA tamir genlerinin disfonksiyonu, kardeş hücrede mutasyonların birikmesine neden olur (186,190).

3. Tümör Baskılayıcı Genler: Hücrenin bölünmesinin baskılanmasından sorumlu genlere tümör baskılayıcı genler adı verilmektedir. Bu genlerde meydana gelen bozukluklar organizmanın genetik olarak anormal hücreleri yok edememesine ve kanser gelişimine neden olur. Rb (Retinoblastom) ilk tanınan tümör baskılayıcı gen, tümör protein 53 (p53) geni ise insan tümörlerinde en sık hasara uğrayan gendir (185,186).

Hücre büyümesini regülasyonu için salgılanan önemli moleküller arasında, Transforme edici büyüme faktörü (TGF) beta, Kadherin ve Deleted kolon kanser geni (DCC) sayılabilir. TGF beta büyümeyi inhibe edici faktör, kadherin hücresel adezyonu sağlamakla görevlidir. DCC geni ise hücre-hücre ve hücre-matriks ilişkisini saptayarak, çevreden aldığı uyarı ile hücre büyüme ve diferansiyasyonunu regüle eder (185,186).

Tümör süpresör genler büyüme sinyalini azaltmada da görevlidirler. Tümör gelişimi için her iki kopyanın da kaybı gerekir. Nörofibromatozis (NF1) geninde bir mutant aleli olanda sayısız nörofibrom gelişebilirken ancak iki kopyasında kayıp olunca malign tümör oluşabilir (185,186).

2.4.3. Metilasyon ve Epigenetik

Metilasyon; memeli hücresi DNA'sında gerçekleştiği bilinen tek kovalan olaydır. DNA metilasyonu, insanlarda ve pek çok memelide bilinen tek doğal DNA modifikasyonudur. DNA metilasyonu yalnızca CpG dinükleotidlerinde bulunan sitozin bazında meydana gelir. CpG adacıkları tüm genomun %2' sini, tüm CpG 'lerin %15' ini oluşturur ve insan genomundaki genlerin yaklaşık %50' sinin promotor bölgesinde bulunur. Normal hücrelerde tekrar dizilerinde bulunan CpG dinükleotidleri metile iken promotor bölgelerde bulunan CpG adacıkları demetiledir (191).

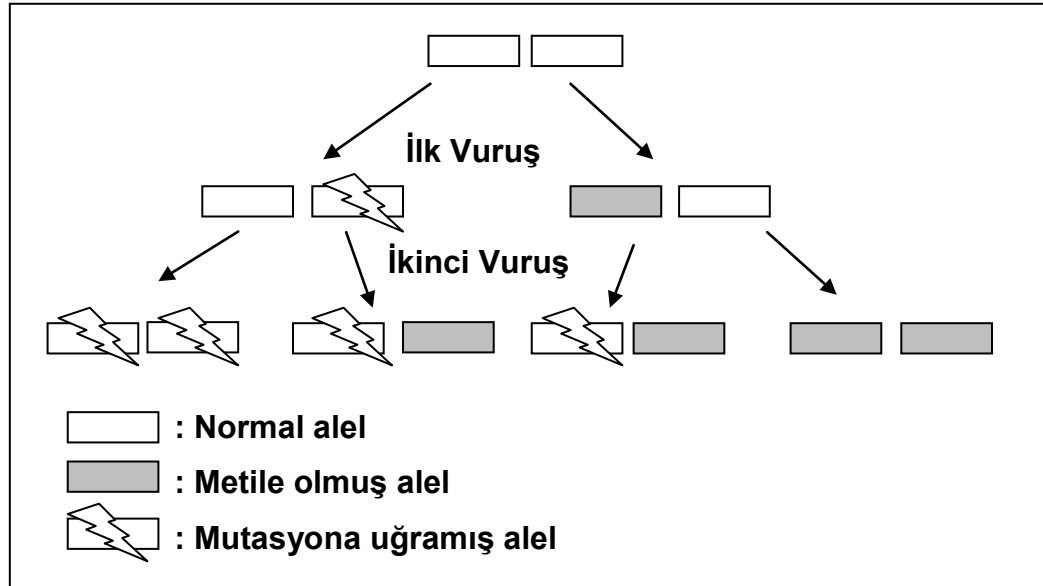
CpG ; Guanozin (G) tarafından takip edilen Sitozin (C) bazı bölgelerini ifade eder. CpG adacığı genlerin promotorlarında bulunan, 300-3000 baz çifti uzunluktaki, guanin ve sitozin bazlarından zengin dizileri ifade eder. Promotorlar, gen transkripsiyonunun düzenlenmesinde görevli genlerin regülatör bölgesidir. Diğer regülatör bölgelerle uyum içinde çalışarak gen transkripsiyonunu yönetirler (192, 193).

Epigenetik değişiklikler; gen nükleotid dizisinde değişiklik olmaksızın gen ifadesinde kalıtılabilir değişikliklerdir. Epigenetik aynı genotipin nasıl farklı fenotiplere yol açtığıнын mekanizmasını bize en iyi şekilde açıklamaktadır (194). DNA metilasyonu için hipo veya hipermetilasyon epigenetik değişikliklere örnek olarak verilebilir. Kanser gelişiminde veya

iyi huylu bir tümörün kötü huylu bir tümöre dönüşmesinde rol oynayabilirler (195).

Epigenetik mutasyon olarak adlandırılan CpG adacıklarında meydana gelen metilasyon değişiklikleri; hücrenin bölünme aşamasında pasif olarak kalıtılan mutasyonların aksine daha aktif olarak kalıtılabilir ve genin ifadesinde değişiklik yapabilir (196). Epigenetik değişiklikler sonucunda kromozomal karasızlıkların olduğu çeşitli sendromlar, tümör oluşumu ya da nörolojik hastalık gelişimi görülebilir (192).

Kanser oluşumunda rol oynayan tümör baskılayıcı genlerin her iki alelelinin de işlevini kaybetmesi gereklidir. Bu Knudson'un iki vuruş hipotezi olarak adlandırılmaktadır (Şekil 1). Buna göre iki vuruştan biri genetik (nokta mutasyonu, delesyon, çerçeve kayması....) diğeri epigenetik (promotor metilasyonu) yada her ikisi de genetik, her ikisi de epigenetik olabilir (197).



Şekil 1: Knudson'un iki vuruş hipotezi

2.4.4. Metilasyon ve Kanser Gelişimi

1980'li yılların başından beri genomik metilasyon ile kanser arasındaki ilişki bilinmektedir (198). Kansere hücrelerinde genomda genel hipometilasyon olabileceği gibi CpG gen adacık hipermetilasyonu da görülebilmekte ve bu durumun o genin transkripsiyonunu önlediği bilinmektedir (199).

Metilasyonun kanser oluşumu mekanizmaları başlıca üç şekilde olmaktadır:

1. Metil sitozinin kendisinin mutasyon oluşturma riski: Normal DNA'da bulunan sitozin deaminasyon sonucu urasile dönüşür. Bu baz ribonükleik asit (RNA) 'de bulunan bir baz olması nedeniyle onarım mekanizmaları tarafından kolaylıkla tanınır. Ancak metilsitozinin spontan deaminasyonla timin bazına dönüşmesi; bu baz normalde de DNA'da bulunduğu için onarım mekanizmalarından kaçır. Sonuçta karsinogenlerin DNA'ya bağlanmasını artırır. Ultraviyole ışınların DNA tarafından daha fazla emilmesine neden olur ve tüm bunlar mutasyon hızını artırır.
2. Tümör baskılayıcı genlerin promotor bölge mutasyonu
3. Genomdaki yağın hipometilasyon: Tekrar bölgelerindeki rekombinasyon oranında artışa ve genomda kararsızlığa neden olur (201).

2.4.4.1. Genlerin Promotor Bölge Hipermetilasyonu

Kansere hücrelerinde tümör baskılayıcı genlerin, DNA onarım genlerinin, hücre döngüsünü kontrol eden genlerin ve gelişimde etkili yolların

normal işlemlerini sağlayan genlerin hipermetilasyon ile susturulduğu belirtilmektedir (193).

Promotor bölge hipermetilasyonu doğrudan baskılamada DNA'nın büyük oluşuna doğru çıkıntı yaparak bu bölgeyi tanınmaz hale getirir. Dolaylı olarak ise promotora bağlanacak transkripsiyon faktörlerinin tanıyacağı bölgeler metilsitozine bağlanan proteinlerin maskelenmesi yoluyla olmaktadır (193).

Esteller ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 15 farklı tümör tipinde hipermetilasyon olduğu belirlenmiş çok sayıda gen bildirilmiştir. Bu genler arasında p16, p15, p14, p73, APC (Ailesel Polipozis Koli) ve BRCA1 (Breast kanser 1) gibi tümör baskılayıcı genler, MLH1 (Mutasyon L homolog 1), GSTP1 ve MGMT (O-metilguanin-DNA-metil transferaz) gibi DNA onarım genleri bulunmaktadır (201).

Metilasyon profili tümöre ve gene özgüdür (199). CpG adacıklarının metilasyon derecesi; farklı tümör tiplerine göre değiştiği gibi aynı tümöre sahip kişilerde bile çevresel etmenlere, genetik yatkınlığa ve epigenetik kontrolü etkileyen diğer pek çok faktöre bağlı olarak farklılık göstermektedir (202).

Metilasyon değişiklikleri hem düşük hem de yüksek evre tümörlerde görülebilmektedir. Bu durum metilasyon değişikliğinin tümörün erken evrelerinde oluştuğunu kanıtlamaktadır. DNA metilasyonu aynı anda yüzlerce geni etkileyebilir (201). Aynı zamanda epigenetik değişiklikler çevresel etmenlerden genetik değişikliklere göre daha fazla etkilenmektedir. Bu da genotoksik olmayan kanserojen maddelerin hangi yolla zarar verdiğini bize açıklamaktadır (199).

2.4.4.2. Tümör Belirteci Olarak DNA Hipermetilasyonu

Günümüzde tarama ve tanı amaçlı akciğer kanseri için tomografi, meme kanseri için mamografi, kolon kanseri için kolonoskopi ve mide kanseri için endoskopi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bunların çoğu pahalı olduğu için geniş toplum taramaları için uygun değildir (204).

Kanser hücrelerinin çoğunda hipermetilasyon tümör tipine özgüdür. Kanserlerin erken döneminde saptanıyor olması da avantajlıdır (203). Bu nedenle kanser saptanması ve sınıflanmasında önemli yere sahip olabilirler. Akciğer kanseri tanısından 35 ay önce tükürük DNA'sında MGMT hipermetilasyonu saptanmıştır. GSTP1 geni açısından prostat kanseri ve hepatoselüler karsinom açısından çalışmalar devam etmektedir. 2004 yılında yapılan bir çalışmada prostat kanseri saptanmasında GSTP1, retinoik asit reseptör, adenomatozis polipozis koli genlerinin hipermetilasyonu histoloji ile birlikte değerlendirildiğinde %97 oranında prostat kanseri tanısı konulduğu görülmüştür (205, 206).

Başka bir avantajı da CpG metilasyonunun primer tümör bölgesi dışında serum, idrar ve balgam örneklerinde de saptanabilmesidir. Ayrıca metilasyonlar genin belli bölgelerinde olduğu için mutasyonlara oranla daha kolay saptanmaktadırlar (205, 206). PCR dayalı yöntemlerin gelişmesi de metilasyon saptanması pratikleşmektedir (207).

Ancak metilasyonun saptanmasının dezavantajları da vardır. Düşük duyarlılık ve özgüllük oranları nedeniyle başka yöntemlere ek olarak kullanılmalıdırlar. (205). Aynı kökene sahip tümör hücrelerinde bile çevresel etkenlere, genetik altyapıya ve epigenetik kontrolü etkileyen diğer etmenlere bağlı farklı metilasyon kalıpları görülebilir. Ayrıca farklı tümör tiplerinde metile olan genlerin bir kısmının ortak olduğu belirtilmektedir. Bu

durumda pek çok kanser için aynı genin metilasyon derecelerini belirleyerek kanser tarama metotları geliştirilmeye çalışılmaktadır (208). DNA metilasyonu ile ilişkili tarama metotları; kanser türüne özgü promotor metilasyon panellerinin tümüyle saptanmamış olması ve klinik çalışmaların azlığı nedeniyle henüz kullanılmaya uygun değildir (193).

2.4.5. Glutasyon S transferaz

Glutasyon S-transferazlar (GST)' in yapısı ile ilgili ilk olarak 1961 yılında, fare karaciğerinde glutasyonun konjugasyonunun gözlenmesi üzerine bilgiler elde edilmeye başlanmıştır (209). Çözülebilir proteinler olan GST'ler tripeptid glutasyonun (gamma-glutamil-glisin; GSH) transferini katalize ederler. Reaktif elektrofolik merkez içeren bir kosubstrattan (R-X) kutupsal bir S-Glutasyonlu (R-SG) reaksiyon ürününün oluşmasını sağlarlar ($R-X + GSH \rightarrow R-SG + HX$). GST' ler dimeriktirler ve ~26 kDa ağırlığında iki alt üniteden oluşurlar. İzoelektrik noktaları pH 4-5' tir. Heterodimer formlar oluştururlar (210).

Memeli dokularında eksprese olan GST, Faz II enzimler (Faz II enzimleri: Glukronat veya sulfat ile konjugasyon ve asetilasyon işlemlerini yapan enzim grubu) grubuna dahil edilen geniş bir gen ailesidir; bu gen ailesine üye GST enzimleri kanserojenik potansiyele sahip birçok endojen ve ekzojen kimyasallara karşı hücre savunmasının önemli bir bölümünü oluştururlar. Ayrıca, dokuların oksidatif hasardan korunması ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynayan önemli enzimlerdir (210).

İnsan sitozolik GST' leri aminoasit dizileri gibi proteinin temel yapısına dayanılarak sınıflandırılmışlardır. İnsan dokularında sentezlenen GST'ler

en az sekiz gen ailesi tarafından kodlanmaktadır. Bunlar: Alpha (GST α), Mu (GSTM, GST μ), Pi (GSTP, GST π), Teta (GSTT, GST θ), Sigma (GSTS), Kappa (GSTK), Omega (GSTO) ve Zeta (GSTZ)' dir (211).

Glutasyon-S transferazlarından GSTM1, GSTM3, GSTT1 ve GSTP1 enzimlerinin genleri polimorfik olduğundan çalışmaların özel ilgi alanına girmektedirler (211).

GSTM1 enzimi; karaciğer, testis, beyin, kalp ve diğer pek çok dokuda yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Kanserojen polisiklik aromatik hidrokarbonların detoksifikasyonundan sorumludur (212).

GSTM3 enzimi; akciğer ve bronşlara ait epitelyumda bulunmaktadır (r224). GSTM3' ün polimorfik formları bulunmaktadır. Bazı polimorfizm formları multiple skleroz ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklar ile ilişkilidir (211).

GSTT1 enzimi; prostat, böbrek, beyin, akciğer gibi dokularda bulunmaktadır. Metilleyici ajanlar, peptisitler ve çözücüler gibi monohalometanları ve çok sayıda potensiyel kanserojenleri metabolize eder (212).

2.4.5.1. GSTP1 ve Mide Kanseri

GSTP1 enzimi başlıca testis, adrenal bez, epitel dokusu, pankreas doku ve hücrelerinde önemli miktarlarda; özellikle üriner, solunum ve sindirimle ilgili sistemlerde ise daha yüksek miktarlarda bulunmaktadır (211).

GSTP1 enzimi, karsinojenler ve sitotoksik ilaçlar gibi elektrofilik bileşiklerin detoksifikasyonunu gerçekleştirmektedir. Buna ilave olarak, DNA' yı oksidatif hasardan korumada önemli bir rol oynamaktadır (213).

Genomdaki lokalizasyonu kromozom 11q13 'tür ve 7 eksondan oluşmaktadır. Değişik hücre tiplerinde değişen oranlarda normal hücrelerde de salınmaktadır. GSTP1 promotor hipermetilasyonu ve ekspresyon inaktivasyonu prostat kanseri, hepatoselüler karsinom ve mide karsinomunda saptanabilmektedir (213).

Mide kanserlerinde hipermetilasyonu saptanan genler mevcuttur ancak GSTP1 ile yapılan çalışma sayısı çok sınırlıdır.

Tinlap ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mide kanserli hastalarda DAP-kinaz, E-kadherin, GSTP1, p15 ve p16 genlerinin promotor metilasyonu araştırılmıştır. Sırasıyla %70,3; %75,9; %18,5; %68,5; %66,7 olarak saptanmıştır. Kontrol grubunda gen metilasyonu saptanmamıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında DNA hipermetilasyonu hastaların serumunda tekrarlanmış, GSTP1 pozitif grubun serumda saptanma oranı %80 gibi yüksek oranda bulunmuştur. Kontrol grubu serumunda ise DNA metilasyonu saptanmamıştır (214).

2005 yılında yapılan bir çalışmada gastrik kanser ile ilgili hipermetilasyonu olan genler araştırılmıştır. hMLH1(human mutL homolog) MGMT, GSTP1 genlerinin hipermetilasyonu gastrik kanserli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı oranda daha sık olarak saptanmıştır. Bu çalışmada mide kanserli hastalarda GSTP1 saptanma oranı %7'dir. Yine ilginç olarak hipermetile genlerin kadınlarda erkeklere göre daha sık olduğu saptanmıştır (215).

III. GEREÇ VE YÖNTEM:

3.1. Doku Örneklerinin Toplanması

Araştırmaya Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı ve İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'na Eylül 2009-Kasım 2011 tarihleri arasında başvurmuş 90 hasta dahil edildi.

Hastalar 4 gruba ayrıldı:

1. 25 Helikobakter pilori (+) intestinal metaplazi
2. 25 Helikobakter pilori (-) intestinal metaplazi
3. 25 mide tümörü
4. 15 kontrol

Araştırmaya dahil edilme kriterleri (kontrol grubu hariç):

- . 18 yaşından büyük olmak
- . Histopatolojik olarak intestinal metaplazi veya mide adenokarsinomu tanısı almış olmak
- . DNA izolasyonu sonrasında spektrofotometrik ölçümde DNA kalitesinin 1,7-2,0 aralığında olması.
- . Helikobakter pilori eradikasyon tedavisi almamış olmak (mide kanseri grubu hariç)

- . Endoskopi işleminden 10 gün önce proton pompa inhibitörü tedavisine ara verilmiş olmak
- . Çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve çalışmaya katılmayı kabul eden hastalar

Dışlanma kriterleri (kontrol grubu hariç)

- . 18 yaşından küçük olmak
- . DNA izolasyonu sonrasında spektrofotometrik ölçümde DNA kalitesinin 1,7'nin altında ya da 2,0'ın üzerinde olması
- . Endoskopi işlemini tolere edememek

Kontrol grubu hastalar için dahil edilme kriterleri :

- . 18 yaşından büyük olmak
- . Üst gastrointestinal sistem yakınması olmak
- . Üst gastrointetinal sistem endoskopisi normal olmak
- . Histopatolojik olarak atrofi, intestinal metaplazi, displazi, mide kanseri tanısı almamış olmak.
- . DNA izolasyonu sonrasında spektrofotometrik ölçümde DNA kalitesinin 1,7-2,0 aralığında olması
- . Çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve çalışmaya katılmayı kabul eden hastalar

Kontrol grubu hastalar için dışlanma kriterleri:

- . 18 yaşından küçük olmak
- . Histopatolojik olarak atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi, mide kanseri tanısı almış olmak

- . DNA izolasyonu sonrasında spektrofotometrik ölçümde DNA kalitesinin 1,7'nin altında ya da 2,0'ın üzerinde olması
- . Endoskopi işlemini tolere edememiş olmak

Çalışma öncesi kriterlere uyan hastalar ile yüzyüze görüşme yapılarak çalışmanın amacı hakkında bilgi verilmiş ve çalışma için ' gönüllü olur formu' imzalatılıp, izin alınmıştır. Sonrasında üst gastrointestinal sistem endoskopisi işlemi yapılarak korpus ve antrum; anterior ve posterior duvarlarından taze biyopsi örnekleri toplanmıştır. Toplanan taze biyopsi örnekleri 0,1 mol/L PBS (phosphate-buffered saline) solüsyonuna konularak -20 derecede saklanmış ve Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı bölümünde çalışılmıştır.

3.2. Kullanılan Cihazlar

- Thermal Cycler (Eppendorf thermal cycler, MASTERCYCLER PROS)
- Doku Homojenizatörü (Roche, MagNA Lyser)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Owl scientific plastics, OSP 105)
- Elektroforez Tankı (Owl seperation sysytem, A2)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Syngene, ingenius LHR))
- Soğutmalı Mikrosantrifuj (Sigma, 3-30K)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik, MD554)
- Derin Dondurucu (Arçelik , 2031D)
- Hassas Terazı (Sartorius, BA210S)
- Buzdolabı (Arçelik 4020T)
- Vorteks (CAT, D7813)

- Su Banyosu (Nüve, NB 20)
- Mikropipet Seti (Therme scientific, finnpipette F2)
- Distile su cihazı (Purelab, DV25)
- Spektrofotometre (Nanodrop, 2000c)

3.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Dokudan DNA izolasyon kiti (İnvitrogene)
- Dokudan DNA izolasyon kiti (Qiagen)
- GSTP Amplifikasyon kiti (Milipore-S7808)
- CpGenome Universal Methylation DNA (Qiagen, cat no:59104)
- 6 X Loading Buffer (fermentas, r0611)
- Taq DNA polimeraz (Fermantas, EP0602)
- 10X TBE (tris-borate-EDTA) Buffer (Gibko, 15581-044)
- 100 bp marker (100 bp DNA Ladder, MBI Fermentas Vilnius, Lithuania)
- Etidium bromur (sigma , E15109)
- Agaroz (Biomax, 104514PR)
- 0,2 µl lik PCR tüpü (Sarsted, D51588)
- Filitreli pipet ucu (0,1 ,10,100,1000 µl)
- 1,5 ml lik ependorf tüp (Greiner Bio-one catalog,:616201)
- Etanol (AppliChem, lot:9T004284)
- Distile Su

3.4. Kullanılan Tampon Çözeltiler

3.4.1. Bisüfit Modifikasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar

- Wash Buffer (Modifikasyon kiti içeriğinde mevcuttur)
5X lik wash buffer solüsyonunu dilue etmek için, Wash buffer solüsyonuna 48 mL % 100 luk etanol koyuldu.
- Stok 3M NaOH
1 gram NaOH (sodyum hidroksit) pelletini 8.3 mL (mililitre) suda çözüldü. Her kullanımda taze olarak hazırlandı.
- 20 mM NaOH % 90 Ethanol
Bu solüsyondan 1mL hazırlamak için, 900 µl (mikrolitre) % 100 Etilenoksit , 93.4 µl su ve 6.6 µl 3M NaOH koyuldu. Her kullanımda taze olarak hazırlandı.
- Çözülmüş DNA Modifikasyon reagent (Modifikaston kiti içeriğinde mevcuttur)
Her bir örneği modifiye etmek için, 0.227 g DNA modifikasyon reagente 0.571 mL su eklendi. PH 5 e ayarlandı. Her kullanımda taze olarak hazırlandı.

3.4.2. Elektroforez İçin Kullanılan Solüsyonlar

- Elektroforez Yürütme Tamponu (1XTBE)

10X TBE Buffer stok solüsyonu 1/9 oranında distile suyla seyreltilerek 1XTBE tamponu hazırlandı. Hazırlanan 1XTBE tamponu elektroforez yürütme tamponu olarak elektroforez tankına konuldu.

- % 2 Agaroz Jel Solüsyonu

100 mL 1XTBE Buffer, 2 gram agaroz karıştırılarak mikrodalga fırında kaynatıldı. Kaynayan jele 15 µl etidium bromid eklendi.

3.5. Kullanılan Yöntemler

3.5.1. Dokudan DNA İzolasyonu

90 hastanın DNA izolasyonunda; önce İnvitrogene marka DNA izolasyon kiti kullanıldı ancak bu kit ile elde edilen DNA'ların çoğunda spektrofotometrik ölçümde istenilen değerlere ulaşamayınca kit değişimi yapıldı ve Qiagen marka dokudan DNA izolasyon kiti kullanıldı.

3.5.1.1. Invitro gene Marka Dokudan DNA İzolasyon İşlemi

- Dokular -20 C'de saklandı.
- Bir ependorf tüpüne, 180 µl Pure Link Genomic Digestion Buffer ve 20µl Proteinaz K konuldu.
- Sonra buffer mixini içine mide biyopsileri yerleştirildi.
- Dokunun tamamen buffer mixinin içine battığından emin olundu.
- Doku tamamen lizis olasıya kadar 1-4 saat 55 C da su banyosunda inkübe edildi.
- Dokudaki lizis olmayan partiküllerin ortadan kaldırılması için oda sıcaklığında maximum hızda 3 dakika lizat santrifüj edildi.
- Süpernatant steril bir mikrosantrifuj tüpüne transfer edildi.
- Lizata 20µl RNase A koyuldu ve kısa bir şekilde vortekslendi ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Lizata 200 µl Pure Link Genomic Lysis Binding Buffer koyuldu ve vortekslendi.
- Lizata 200 µl % 96-10' luk etanol koyuldu ve 5 saniye vortekslendi.
- Kitten çıkan toplama tüplerinin içine PureLink spin kolonları yerleştirildi.
- PureLink spin kolon içine lizatı eklendi (~640µl).
- Oda sıcaklığında 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edildi.
- Toplama tüpü yenisiyle değiştirildi.
- Kolon içine etanol ile hazırlanmış 500µl Wash Buffer 1 eklendi.
- Oda sıcaklığında 10.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpü yenisiyle değiştirildi.
- Kolon içine etanol ile hazırlanan 500µl Wash Buffer 2 eklendi.
- Oda sıcaklığında maximum hızda 3 dakika santrifüj edildi.

- Toplama tüpü atıldı ve 15 ml lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.
- Kolona 25-200  l PureLink Genomic Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- Oda sıcaklığında maximum hızda 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası oluşan supernant izole edilmiş DNA'ydı.

3.5.1.2. Qiagen Marka Dokudan DNA İzolasyon İşlemi

- Dokular -20 C'de saklandı.
- 25 mg'lik doku küçük parçalara ayrıldı ve 1.5'luk ependorflara koyuldu.
- 1.5 ml santrifüj tüpü üzerine 180 l Buffer koyuldu.
- 20  l proteinaz K eklendi, vorteksle, 56°C'de doku tamamen lize olana kadar inkübe edildi.
- 1-3 saat boyunca saatte 2-3 defa vorteksle tekrar inkübasyona devam edildi.
- Kapaktaki içeriği aşağıya indirmek için kısa bir santrifüj yapıldı.
- 200  l Buffer alınıp eklendi, 15sn vorteksle, 70°C'de 10 dk inkübe edilip, kısa bir santrifüj yapıldı.
- 200  l etanol eklenerek (%96-100) , 15 saniye vorteksle kısa bir santrifüj yapıldı.
- Spin Colum tüpüne içeriği aktarılarak, 6000g de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpü atılıp yerine yerine yeni bir toplama tüpü koyuldu.
- Spin Colum kapağını açılarak 500 l Buffer eklenip, sıratmadan. 6000g'de 1 dakika santrifüj edildi.

- Alttaki toplama tüpü yenisini ile değiştirildi.
- Spin Colum içerisine 500µl Buffer koyulup, 20.000 g'de 3 dakika santrifüj edildi.
- Alt toplama tüpünü atılıp yerine yenisini koyularak, full hızda 1 dakika santrifüj edildi.
- Alt tp atılarak yerine 1.5'luk ependorf koyuldu.
- Spin Colum zerine 200µl Buffer koyularak, oda ısısında 1 dakika inkübe edildi. 6.000g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası oluşan supernant izole edilmiş DNA'ydı.

3.5.2. DNA'nın Spektrofotometre İle Konsantrasyon lm

İzole edilen DNA'ların Nanodrop spektrofotometresi ile 260 nm(nanometre) dalga boyundaki absorban değerleri okundu. Elde edilen DNA rneklerinin konsantrasyon ve saflık ölçümleri yapıldı. 260|280 nm deki absorbans değeri 1,7-2.00 aralığında olan ve 1000 ng konsantrasyondaki DNA rnekleri çalışmaya dahil edildi. Bu lmler dışındakiler çalışma dışı bırakıldı. Çalışma dışı kalan hastaların yerine yeni örnekler toplandı. Bu ölçümlerin bir kısmı Tablo 3' de sunulmuştur:

Tablo 3: DNA saflık ölçüm tablosu

Örnekler	A260	A280	260/280
Örnek 1	0,828	0,451	1,84 (uygun)
Örnek 2	0,703	0,383	1,83 (uygun)
Örnek 3	0,458	0,246	1,86 (uygun)
Örnek 4	0,515	0,292	1,76 (uygun)
Örnek 5	0,282	0,158	1,78 (uygun)
Örnek 6	0,225	0,126	1,79 (uygun)
Örnek 7	0,642	0,348	1,85 (uygun)
Örnek 8	0,615	0,337	1,83 (uygun)
Örnek 9	0,935	0,509	1,84 (uygun)
Örnek 10	0,498	0,277	1,8 (uygun)
Örnek 11	0,309	0,171	1,8 (uygun)
Örnek 12	0,162	0,089	1,89 (uygun)
Örnek 13	0,159	0,175	0,91(çalışma dışı)
Örnek 14	0,601	0,199	3,02(çalışma dışı)
Örnek 15	0,120	0,152	0,79(çalışma dışı)

3.5.3. Bisülfite Modifikasyonu

Dokulardan elde edilen DNA örnekleri sodyum bisülfite modifikasyon kiti ile muamele edildi. Sodyum bisülfite metillenmemiş sitozinin urasile dönüşümünü sağlarken 5-metilsitozin üzerinde bir değişiklik oluşturmamaktadır.

Bisülfıt modifikasyonu

- 1- 2.0 mL lik mikrosantrifüj tüpüne 100µL suya, 7.0 µl 3M NaOH ve 1.0 µg DNA eklendi.
- 2- DNA 37 C'de 10 dakika su banyosunda inkübe edildi.
- 3- 550 µl taze hazırlanmış DNA modifikasyon reagent eklenip vortekslendi.
- 4- 16-20 saat 50 C'da su banyosunda inkübe edildi.

Desalting-Desülfonasyon-Elüsyon:

- 1- Örnek 5 dakika buzda inkübe edildi
- 2- 750µL Binding Buffer eklendi ve nazikçe karıştırıldı.
- 3- Spin kolum içine yaklaşık 700 µL örnek yüklendi.
- 4- Spin kolumu 5000g de 30 saniye çevirildi. Süpernatantı atıldı
- 5- Örneğin kalan miktarları da spin koluma yüklendi ve santrifüj edildi.
Yani 4. adım 3-4 kez tekrarlandı
- 6- 1X Wash Buffer 'dan 750µL eklendi ve full hızda 1 dakika çevirildi.
- 7- 50µl 20mM NaOH, % 90 Etanol solüsyonu spin kolumdaki membranın ortasına eklendi.
- 8- 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 30 saniye full hızda çevirildi ve süpernatantı atıldı.
- 9- 1X Wash Buffer'dan 750µL eklendi ve full hızda 30 sn çevirilip ve süpernatantı atıldı.
- 10- 9. adım tekrarlandı
- 11- Wash buffer kalıntılarını kaldırmak için 30 saniye full hızda çevirildi.

12- Spin kolumu 1.5 mL 'lik temiz tüpe yerleştirildi. 30-45 µL Elüsyon buffer'ı membranın ortasına bırakıldı ve 1 dakika inkübe edildi. 1 dakika full hızda çevirildi. Daha fazla modifiye DNA için iki adım 30 µL elusyon buffer koyuldu.

13- DNA PCR'a hazırlandı ve -20 C'de saklandı.

3.5.4. Metilasyona Özgül PCR (MS-PCR)

Bisülfid uygulamasından sonra yapılan PCR tepkimeleri esnasında urasilin yerine timin geçmekte metilasyonlu sitozinler ise sitozin olarak kalmaktadır. İlgili genlerin metilasyonlu ve metilasyonsuz dizilerine özgül olan primerlerin kullanılmasıyla araştırılan genlerin promotör bölgelerindeki metilasyon durumu belirlenmiştir.

Amplifikasyon kit protokolu(Master Mix)

- 10X Universal PCR Buffer2.5 µL
- 2.5mM dNTP Mix..... 2.5 µL
- U ve M primerler..... 1.0 µL
- Taq Polimeraz (5U| µL)0.75 µL (1 U)
- dH2O.....16.25 µL

23 µL

Her bir hasta için 2 tüp hazırlandı:

1. Tüp U: 23 µL pCR U mix +2 µL modifiye DNA
2. Tüp M: 23 µL pCR M mix +2 µL modifiye DNA

PCR programi

95 C da 5 dak, 39 siklus uygulandı.

Denaturasyon

Denaturasyon 95 C'de 45 sn uygulandı.

Anneal 60 C'de 45 sn uygulandı.

Extend 72 C'de 60 sn uygulandı.

3.5.5. Agaroz Jel Elektroforezi

- PCR ürünlerinin metilasyon durumlarını görüntülemek için % 2 lik agaroz jel kullanıldı.
- Jeli hazırlamak için, 2 gr Agaroz, TBE tamponu ile 100 ml'ye tamamlandı, kaynatılarak erimesi sağlandı, jel kalıbına dökmeden önce yaklaşık 65 °C`ye kadar soğutuldu.
- İçerisine 4,5 µl Etidyum Bromid eklendi, karıştırıldı ve jel kalıbına döküldü, kuyucukların oluşmasını sağlayan tarak takıldı ve donmaya bırakıldı.
- Jel polimerize olduktan sonra taraklar çıkarıldı ve jel yatay elektroforez tankına yerleştirildi.
- Jelin üzerine 1-2 mm geçecek şekilde 1x TBE tampon çözeltisi ilave edildi.
- DNA örneğinin agaroz jele yüklenmesi sırasında jelin ilk ve son kuyucuğuna izole DNA' yı karşılaştırmak amacıyla DNA boyut belirleyicisi yüklendi.

- İzole DNA ürününden 0,5' lik Eppendof tüpe 5 µl alındı ve üzerine 2 µl loading buffer eklendi.
- Mikropipetle karıştırıldıktan sonra sırasıyla herbir DNA örneği kuyucuğa yüklendi.
- Ürünler 200 V (Volt) `ta 15 dakika yürütüldü.
- Daha sonra jel, transilüminatörde değerlendirildi.

3.6. İstatistiksel Analiz:

İstatistiksel değerlendirmeler için gruplar arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla ki-kare testi kullanıldı.

BULGULAR:

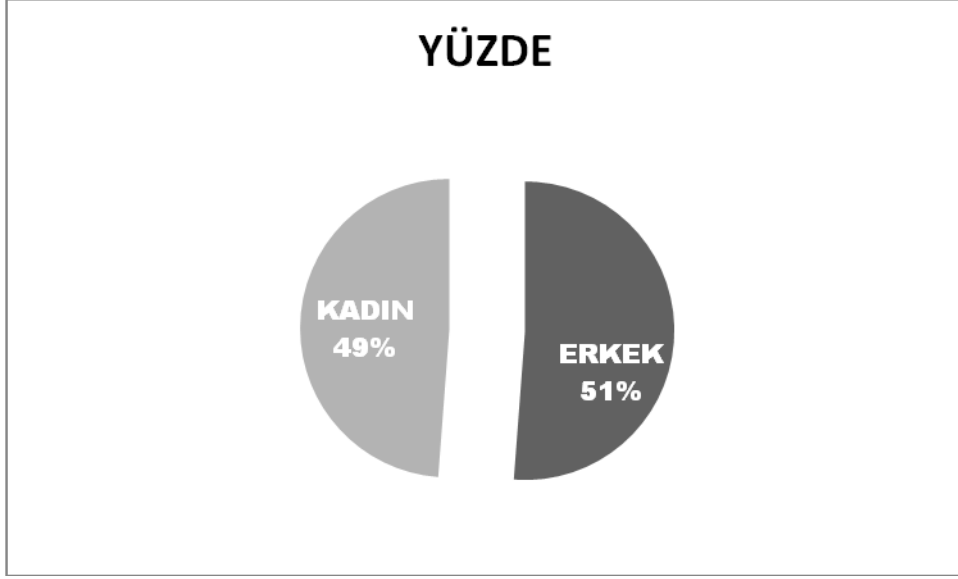
Çalışmamıza toplam 90 hasta dahil edildi. Grupların sayı dağılımları incelendiğinde genel hasta sayı dağılımı açısından anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4).

Tablo 4: Olgularımızın gruplara göre dağılımı

	Kontrol(a)	Hp pozitif(b)	Hp negatif(c)	Mide Kanseri(d)
n	15	25	25	25
%	16,69	27,77	27,77	27,77

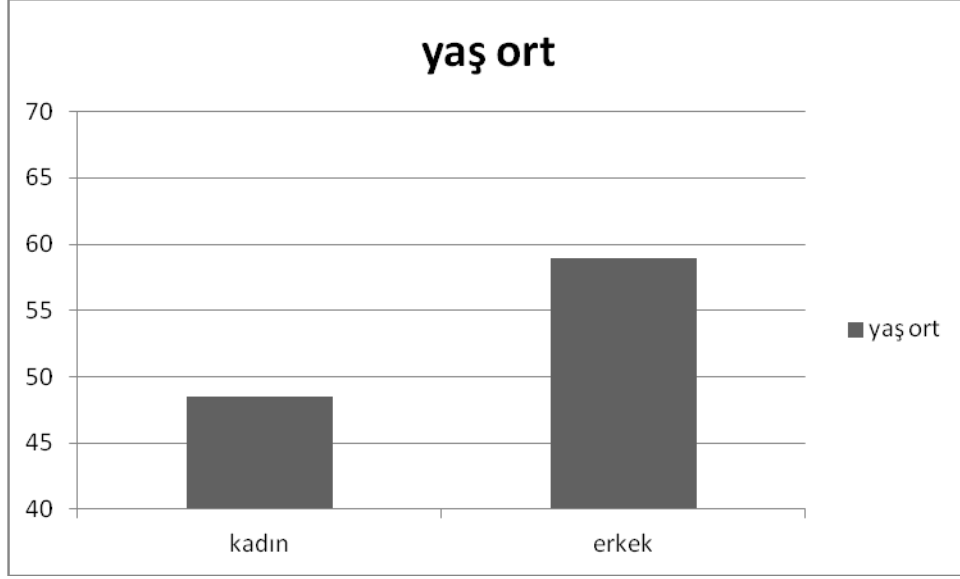
P(a-b): 0,062

Çalışmamızda 90 hastanın 46 (%51,20) tanesinin cinsiyeti erkek, 44 (%48,80) tanesinin cinsiyeti kadın olarak saptandı (Grafik1).



Grafik 1: Olgularımızın cinsiyete göre dağılımı

Çalışmamızda genel yaş ortalaması 53,84 idi. Cinsiyetlere göre yaş ortalamasına bakıldığında erkeklerde yaş ortalamasının 58,3; kadınlarda ise 48,52 olduğu görüldü (Grafik 2).



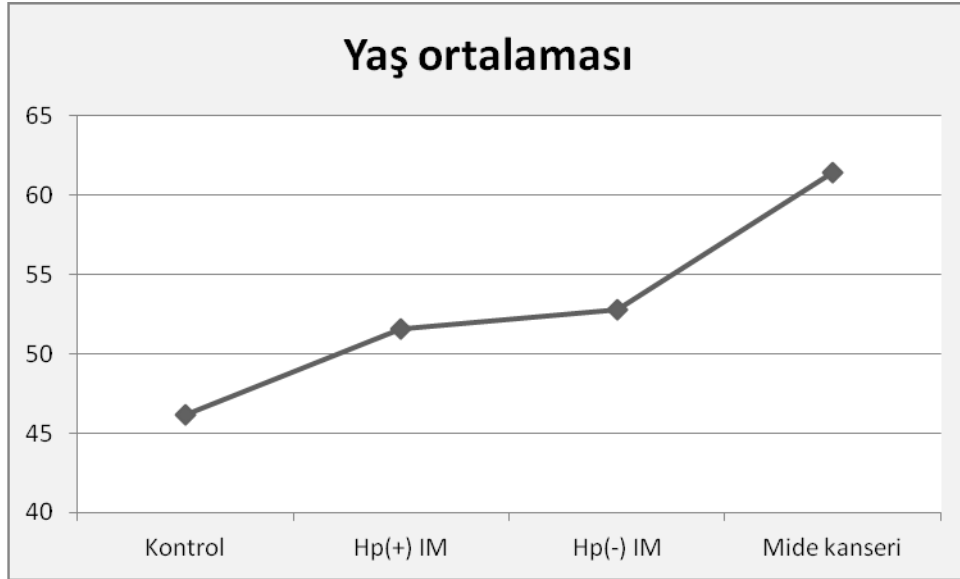
Grafik 2: Olgularımızın cinsiyete göre yaş ortalamaları

Gruplara göre yaş ortalamaları değerlendirildiğinde;

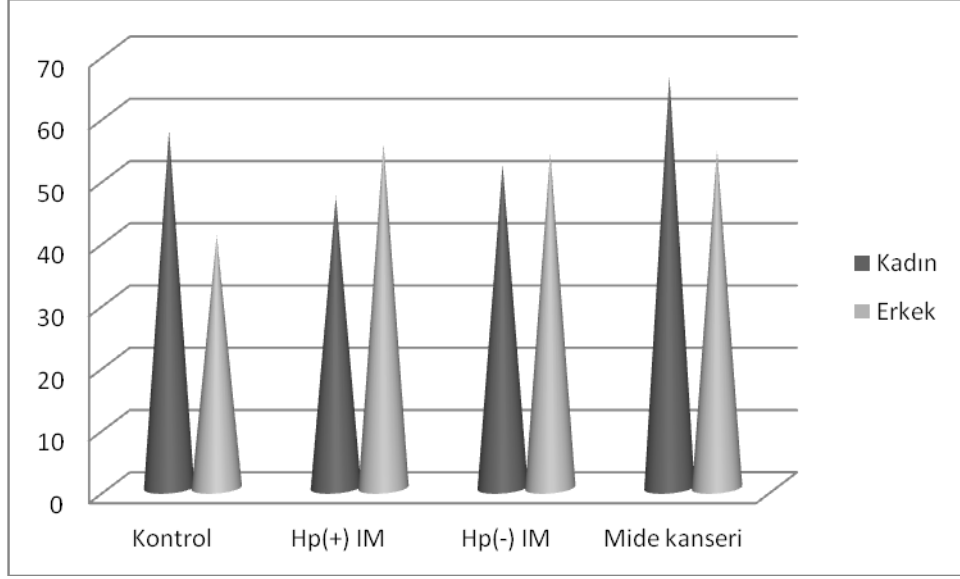
- Kontrol grubunda yaş dağılım aralığı 21-79 ve grubun genel yaş ortalaması 46,13 idi. Gruptaki erkek olguların yaş ortalaması 57, 4 ve kadın olguların yaş ortalaması 40,5 idi.
- Hp pozitif IM grubunun yaş dağılım aralığı 32-75 ve grubun genel yaş ortalaması 51,6 idi. Gruptaki erkek olguların yaş ortalaması 55,31; kadın olguların yaş ortalaması 46,81'di.
- Hp negatif IM grubunun yaş dağılım aralığı 23-77 ve grubun genel yaş ortalaması 52,76'ydi. Gruptaki erkek olguların yaş ortalaması 53,81 kadın olguların yaş ortalaması 51,92'ydi.
- Mide kanseri grubunun yaş dağılım aralığı 29-84 ve genel yaş ortalaması 61,40 iken mide kanserli erkek olguların yaş ortalaması 66,06; kadın olguların yaş ortalaması 54,22 olarak saptandı (Tablo 5, Grafik 3, 4)

Tablo 5: Gruplara göre yaş ortalamaları

	Kontrol	Hp (+) IM	Hp(-) IM	Mide kanseri
Yaş ortalaması (Erkek)	57,4	55,31	53,81	66,06
Yaş ortalaması (Kadın)	40,5	46,81	51,92	54,22
Yaş ortalaması (Genel)	46,13	51,6	52,76	61,40



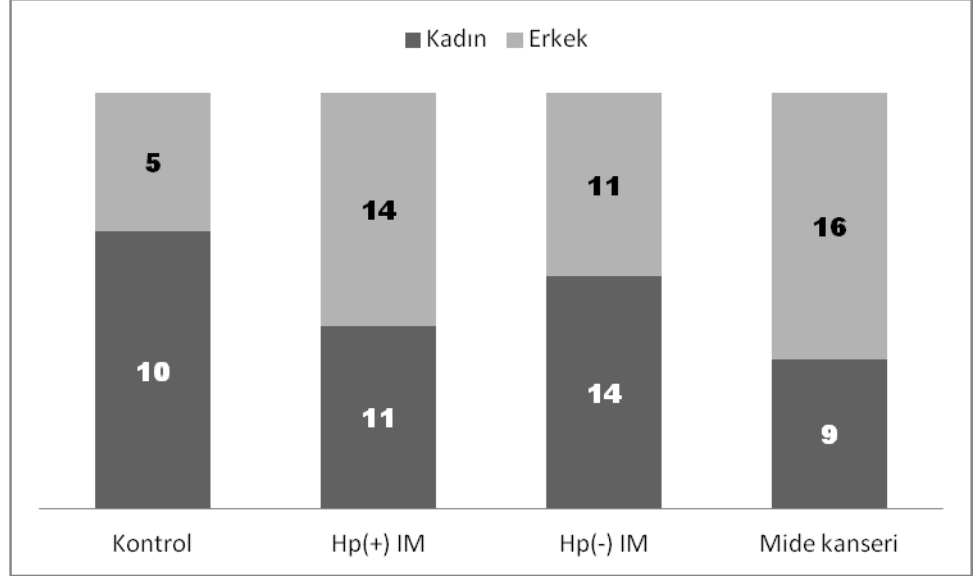
Grafik 3: Gruplara göre genel yaş ortalamaları



Grafik 4: Olgularımızın gruplara ve cinsiyetlere göre yaş ortalamaları

Çalışma grubumuzdaki grupların cinsiyete göre dağılımları incelendiğinde;

- Kontrol grubunun %33,34'ünü erkekler (n:5), %66,66'sını kadınlar (n:10); ,
- Hp pozitif IM grubunun %56'sını erkekler (n:14), %44'ünü kadınlar (n:11) ;
- Hp negatif IM grubunun %44'ünü erkekler (n:11), %56'sını kadınlar (n:14);
- Mide kanseri grubunun ise %64'ünü erkekler (n:16), %36'sını kadınlar (n:9) oluşturmaktaydı (Grafik 5).



Grafik 5: Gruplara göre olguların cinsiyet dağılımı

Grupların cinsiyete göre değerlendirilmesi yapıldığında;

- Kontrol grubu ile Hp (+) IM grupları karşılaştırıldığında Hp(+) IM grubunda erkek olgu sayısının, kontrol grubunda ise kadın olgu sayısının anlamlı derecede daha fazla olduğu saptandı (p:0001).
- Kontrol grubu ile Hp(-) IM grubu karşılaştırıldığında erkek cinsiyet açısından fark saptanmazken kadın olguların kontrol grubunda anlamlı olarak daha fazla olduğu saptandı (p:0,001)
- Mide kanseri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında mide kanserinde erkek cinsiyet kontrol grubunda da kadın cinsiyetin anlamlı olarak daha fazla olduğu saptandı (p:0,00002).
- Mide kanseri grubunda Hp(-) IM grubuna göre erkek cinsiyet anlamlı olarak daha fazla saptandı (p:0,045).

- Diğer olgu grupları arasında kadın ve erkek olgu sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). (Tablo 6)

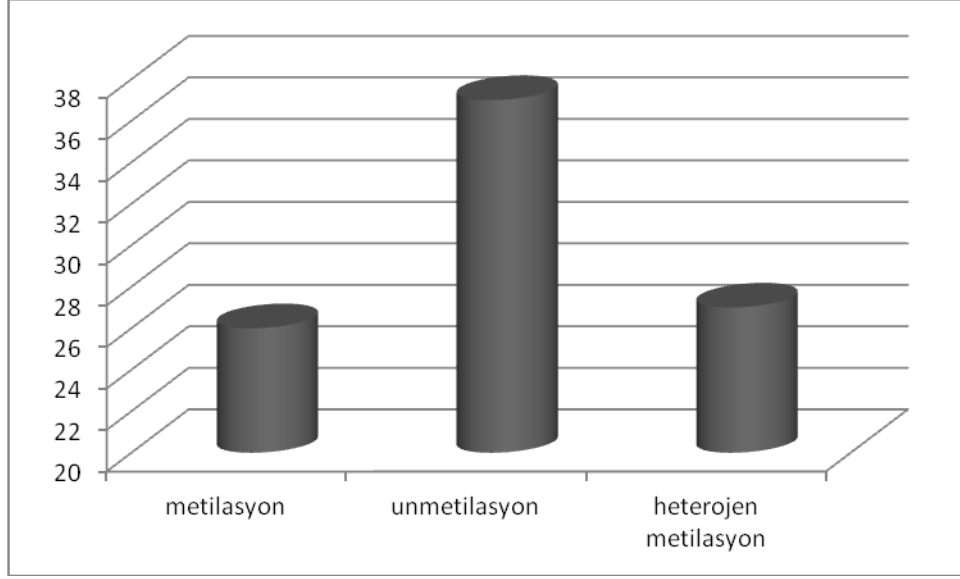
Tablo 6: Gruplara göre cinsiyetin dağılım yüzdeleri

	Kontrol (a)	Hp (+) IM (b)	Hp(-) IM (c)	Mide kanseri (d)
Kadın (%)	66,66%	44%	56%	36%
Erkek(%)	33,34%	56%	44%	64%

$p(a-b)$ K:0,001 $p(a-b)$ E: 0,001 $p(a-c)$ K: 0,001 $p(a-d)$ E-K:0,001
 $p(c-b)$ E:0,045 diğer $p>0,05$ K: Kadın E:Erkek

Çalışmamızda GSTP1 geni metilasyon sonuçları değerlendirildiğinde; (Grafik 6).

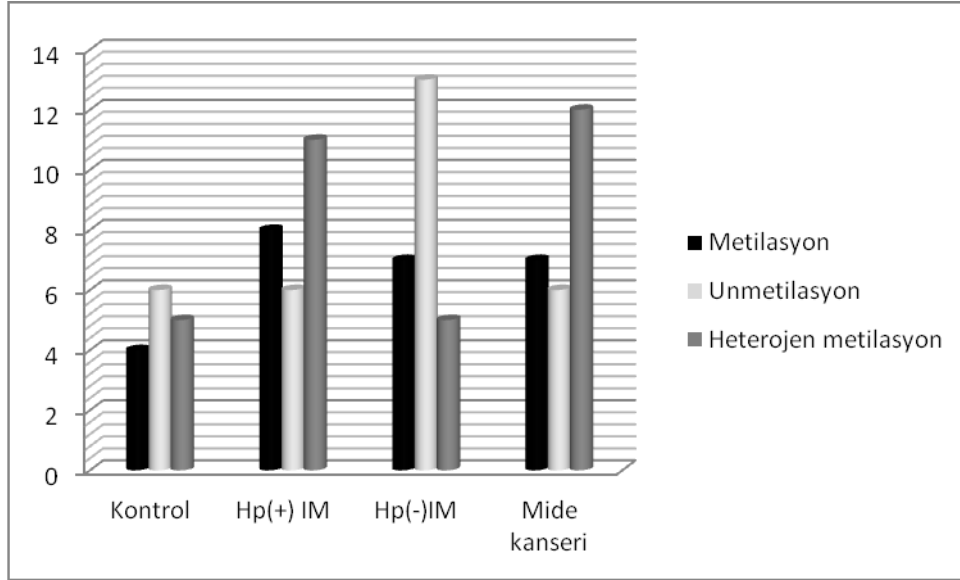
- Metilasyon saptanan olgu sayısı 26 (%29);
- Unmetilasyon saptanan hasta sayısı 37 (%41)
- Heterojen metilasyon saptanan hasta sayısı 27 (%30)'ydi.



Grafik 6: Olgularımızdaki genel GSTP1 geni metilasyon profili

Gruplardaki GSTP1 geni metilasyon profili karşılaştırıldığında;

- Kontrol grubunda 4 (%26,6) olguda metilasyon , 6 olguda (%40) unmetilasyon, 5 (%33,4) olguda heterojen metilasyon,
- Hp (+) IM grubunda 8 (%32) olguda metilasyon , 6 (%24) olguda unmetilasyon ,11 (%44) olguda heterojen metilasyon,
- Hp (-) IM grubunda 7 (%28) olguda metilasyon, 13 (%52) olguda unmetilasyon, 5 (%20) olguda heterojen metilasyon,
- Mide kanseri grubunda 7 (%28) olguda metilasyon, 6 (%24) olguda unmetilasyon , 12 (%48) olguda heterojen metilasyon saptandı (Grafik 6).



Grafik 6: Olgularımızın gruplara göre GSTP1 geni metilasyon profili

GSTP1 geni metilasyon profili değerlendirildiğinde;

Metilasyon ;

- Tüm gruplar ikili gruplar halinde karşılaştırıldı. Gruplar arasında metilasyon profili açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

Unmetilasyon ;

- Kontrol grubunda Hp(+)-IM grubuna göre anlamlı olarak daha fazla ($p:0,015$)
- Kontrol grubunda mide kanseri grubuna göre anlamlı olarak daha fazla ($p:0,015$)
- Hp(-)-IM grubunda Hp(+)-IM grubuna ve mide kanseri grubuna göre anlamlı olarak daha fazla ($p:0,00004$) oranda saptandı.

- Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).
Heterojen metilasyon ;
- Mide kanseri grubunda Hp(-) IM grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek ($p: 0,00002$)
- Kontrol grubunda Hp(-) IM grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek ($p:0,025$)
- Hp(+) IM grubunda Hp(-) IM grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek ($p:0,0002$)
- Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). (Tablo 7)

Tablo 7: Olgularımızın gruplara göre GSTP1 geni metilasyon profili

GTSP1 metilasyon durumu	Kontrol (A)	Hp (+) IM (B)	Hp(-) IM (C)	Mide kanseri (D)
Metilasyon (%)	4 (%26,6)	8 (%32)	7 (%28)	7 (%28)
Unmetilasyon (%)	6 (%40)	6 (%24)	13 (%52)	6 (%24)
Heterojen metilasyon (%)	5 (%33,4)	11 (%44)	5 (%20)	12 (%48)

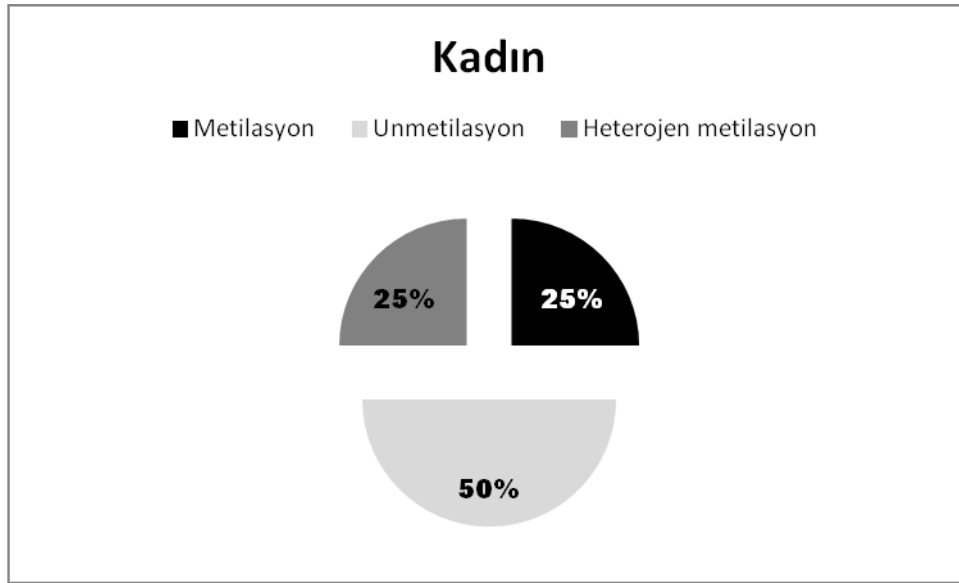
Metilasyon: p değerleri $>0,05$

Unmetilasyon: $p(A-B):0,015$ $p(A-D):0,015$ $p(C-D):0,00004$ diğer p değerleri $>0,05$

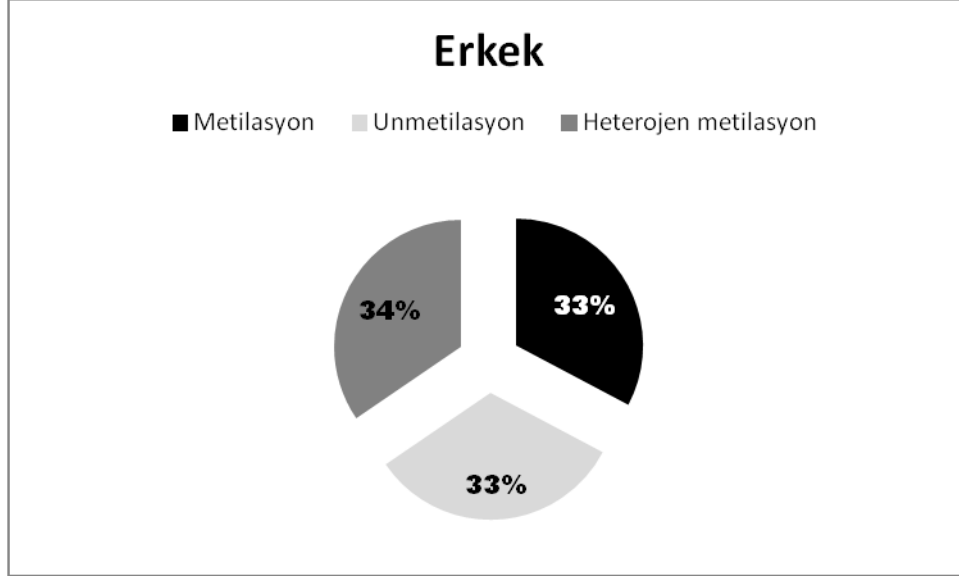
Heterojen metilasyon: $p(A-C): 0,025$ $p(B-C):0,0002$ $p(C-D): 0,00002$

diğer p değerleri $>0,05$

Her iki cinsiyet arasında grup ayrımı yapılmaksızın bakıldığında kadın olgularda metilasyon 11 olguda (%25), unmetilasyon 22 olguda (%50), heterojen metilasyon 11 olguda (%25) saptandı (Grafik 7). Erkek olgularda 15 olguda (%32,60) metilasyon, 15 olguda (%32,60) unmetilasyon ve 16 olguda (%34,8) heterojen metilasyon saptandı (Grafik 8).



Grafik 7: Kadın olgularımızın GSTP1 geni metilasyon profili



Grafik 8: Erkek olgularımızın GSTP1 geni metilasyon profili

Her grup ayrı ayrı metilasyon profili açısından cinsiyetlere göre değerlendirildiğinde

Kontrol grubunda:

- Kadın : 2 olguda metilasyon (%20), 5 olguda unmetilasyon (%50) ve 3 olguda heterojen metilasyon (%30) ;
- Erkek : 2 olguda metilasyon (%40), 1 olguda unmetilasyon (%20) ve 2 olguda heterojen metilasyon (%40) saptandı.

Mide kanseri grubunda:

- Kadın : 2 olguda metilasyon (%22,22), 6 olguda unmetilasyon (%66,66) 1 olguda heterojen metilasyon (%11,12) saptandı.

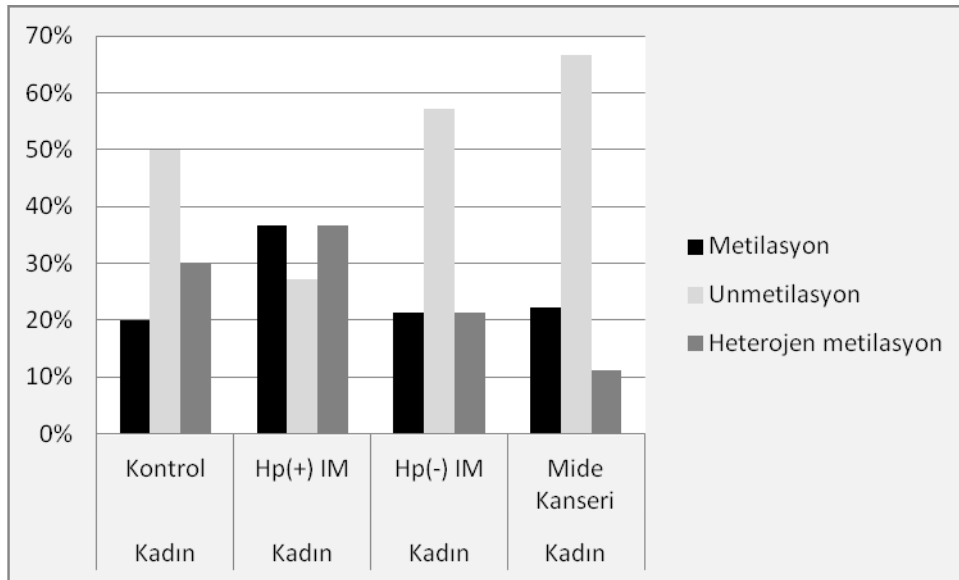
- Erkek : 5 olguda metilasyon (%31,25), 6 olguda unmetilasyon (%37,5) ve 5 olguda heterojen metilasyon (%31,25) saptandı.

Hp (+) IM grubunda:

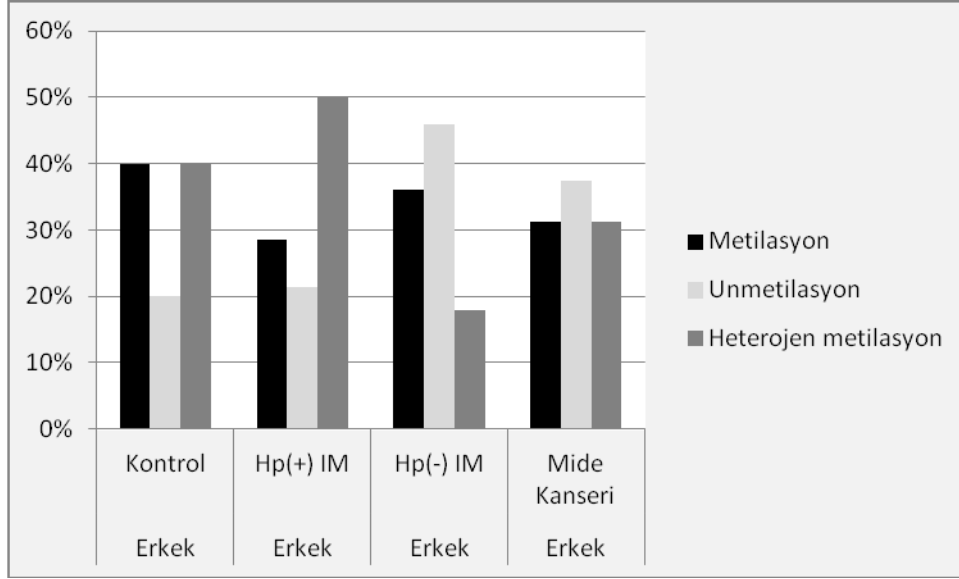
- Kadın: 4 olguda metilasyon (%36,36), 3 olguda unmetilasyon (%27,28) ve 4 olguda heterojen metilasyon (%36,36)
- Erkek: 4 olguda metilasyon (%28,57), 3 olguda unmetilasyon (%21,42) ve 7 olguda heterojen metilasyon (%50,01) saptandı.

Hp(-) IM grubunda:

- Kadın: 3 olguda metilasyon (%21,42), 8 olguda unmetilasyon (%57,14) ve 3 olguda heterojen metilasyon (%21,44) saptandı.
- Erkek olgularda ise 4 olguda metilasyon (%36), 5 olguda unmetilasyon (%46) ve 2 olguda heterojen metilasyon (%18) saptandı (Grafik 9,10).



Grafik 9: GSTP1 geni metilasyon profilinin kadın cinsiyete ve gruplara göre dağılımı



Grafik 10: GSTP1 geni metilasyon profilinin erkek cinsiyete ve gruplara göre dağılımı

Cinsiyetlere ve gruplara göre GSTP1 geni metilasyon profili incelendiğinde:

- Kontrol grubunda metilasyon, heterojen metilasyon açısından cinsiyetler arasında fark saptanmazken, unmetilasyon kadın olgularda anlamlı olarak daha yüksek oranda saptandı ($p:0,002$).
- Hp(+) grupta metilasyon, unmetilasyon açısından cinsiyetler arasında fark saptanmazken ($p>0,05$); heterojen metilasyon erkek olgularda anlamlı olarak daha fazla saptandı ($p:0,045$).
- Hp(-) grupta metilasyon anlamlı olarak erkek olgularda daha fazla saptanırken ($p:0,045$), unmetilasyon ve heterojen metilasyon açısından farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

- Mide kanseri grubunda metilasyon açısından cinsiyetler arasında anlamlı farklılık saptanmazken ($p>0,05$); heterojen metilasyon ($p:0,0005$) erkek olgularda; unmetilasyon ($p:0,00004$) ise kadın olgularda anlamlı olarak daha yüksek oranda saptandı(Tablo 8)

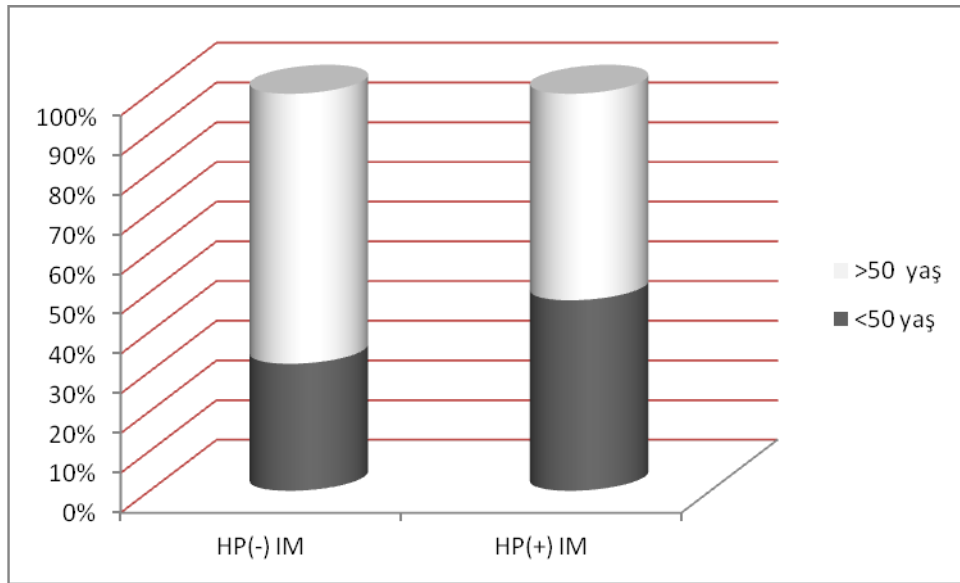
Tablo 8: GSTP1 geni metilasyon profilinin cinsiyete ve gruplara göre % dağılımı (K:Kadın, E:Erkek)

	Metilasyon	Unmetilasyon	Heterojen metilasyon
Kontrol(%) K	20%	50%	30%
Kontrol(%) E	40%	20%	40%
Hp(+) IM (%) K	36,6%	27,28%	36,6%
Hp(+) IM (%) E	28,57%	21,42%	50,01%
Hp (-) IM (%) K	21,42%	57,14%	21,44%
Hp (-) IM (%) E	36%	46%	18%
Mide kanseri(%) K	22,22%	66,66%	11,12%
Mide kanseri(%) E	31,25%	37,5%	31,25%

IM hastaları 50 yaş öncesi ve sonrası açısından değerlendirildiğinde genel olarak IM hastaların %60'ı 50 yaş üstünde (n:30); %40'ı 50 yaş altında (n:20) saptandı. Hp negatif grupta ise %68'i 50 yaş üstünde (n:12) iken %32'si 50 yaş altındaydı (n:8). Hp pozitif grupta ise %52 'si 50 yaş

Üstünde (n:13) iken %48'i 50 yaş altındaydı (n:12) (Grafik 11).

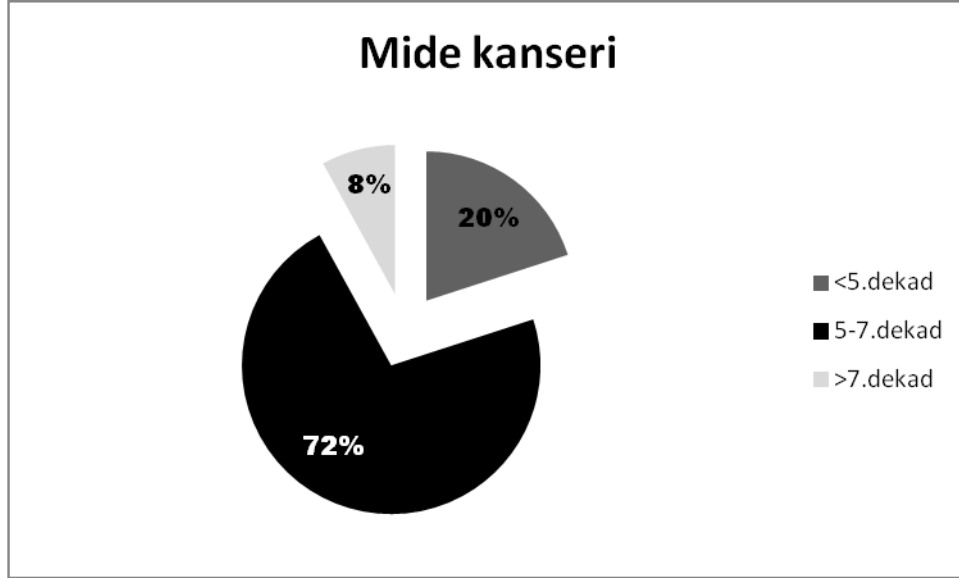
50 yaş sınırına göre değerlendirildiğinde Hp(-)IM grubunda Hp(+) IM grubuna göre 50 yaş üstü olgular anlamlı olarak daha fazla saptandı (p<0,01).



Grafik 11: IM olgularımızın 50 yaş sınırına göre dağılımı

Mide kanserinin en sık görüldüğü dekadlar olan 5. ve 7. dekadlara göre mide kanseriolguları sınıflara ayrıldı. Olgularımızın %72'si (n:18) 5-7. dekadlar arasında; %8'i 7.dekad üzerinde (n:2) ve %20'si 5.dekad

altında (n:5) saptandı (Grafik 12).



Grafik 12: Mide kanserli olgularımızın 5-7.dekad sınırına göre dağılımı

Mide kanserinin 5-7. Dekad ayırımına göre GSTP1 gen metilasyon profili değerlendirildiğinde;

- . 5.dekad altındaki grupta: %40 (n:2) metilasyon; %40 unmetilasyon (n:2) metilasyon; %20 (n:1) heterojen metilasyon saptandı.
- . 5-7. dekadlar arasındaki grupta : %27,77 (n:5) metilasyon, %50 unmetilasyon (n:9) ve %22,23 (n:4) heterojen metilasyon saptandı.
- . 7.dekad üstündeki grupta : Metilasyon saptanmazken ; unmetilasyon %50 (n:1) ; heterojen metilasyon %50 (n:1) olarak saptandı.

Gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında

- Metilasyon ve unmetilasyon açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).
- Heterojen metilasyon 7.dekad üstü grupta hem 5. dekad altı gruba hem de 5-7.dekad arası gruba göre anlamlı olarak daha fazla saptandı ($p<0,001$). (Tablo 9)

Tablo 9: Mide kanseri dekad dağılımına göre metilasyon profili yüzde dağılımı

	<5. Dekad (a)	5-7 . Dekad (b)	>7 dekad (c)
Metilasyon	%40	%27,77	0
Unmetilasyon	%40	%50	%50
Heterojen metilasyon	%20	%22,23	%50

Metilasyon: $p(a-b):0,073$

Unmetilasyon: Tüm $p>0,05$

Heterojen metilasyon: $p(a-c)<0,001$ $p(b-c)<0,001$ diğer $p>0,05$

Kontrol grubu Hp açısından değerlendirildiğinde; %60 (n:9) olgunun Hp(+) ve %40 olgunun Hp(-) olduğu görüldü. Kontrol grubu Hp(+) ve Hp(-) gruplara ayrılarak GSTP1 geni metilasyon profili değerlendirildiğinde;

- Hp (+) kontrol grubunda metilasyon %22 (n:2); unmetilasyon %45 (n:4) ; heterojen metilasyon %33 (n:3) saptandı.
- Hp(-) kontrol grubunda metilasyon %33,34 (n:2); unmetilasyon %33,33 (n:2); heterojen metilasyon %33,33 (n:2) saptandı (Tablo 10).
- Hp(+) kontrol ile Hp(-) kontrol grupları karşılaştırıldığında ;metilasyon, unmetilasyon, heterojen metilasyon oranları açısından anlamlı farklılık saptanmadı
- Hp(+) grubu kendi arasında karşılaştırıldığında unmetilasyon metilasyona göre anlamlı olarak daha fazla saptandı(p:0,005). Metilasyon-heterojen metilasyon, unmetilasyon-heterojen metilasyon arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).
- Hp(-) grupta metilasyon-unmetilasyon, metilasyon-heterojen metilasyon, unmetilasyon-heterojen metilasyon arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

Tablo 10: Kontrol grubunun Hp(+) ve Hp(-) durumuna göre metilasyon dağılımı

	Metilasyon(a)	Unmetilasyon(b)	Heterojen metilasyon(c)
HP(+) Kontrol	2(%22)	4(%45)	3(%33)
HP (-) kontrol	2(%34)	2(%33)	2(%33)

Hp(+) IM: p(a-b): 0,005 , diğer p değerleri

Hp (+) kontrol grubu ile Hp(+) IM grubu metilasyon profili açısından karşılaştırıldığında metilasyon ve heterojen metilasyon açısından açısından her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

V. TARTIŞMA

Mide kanseri tüm dünyada değişik sıklıklarda görülen agresif tavrılı ve kötü prognozlu yaygın bir hastalıktır. Dünyada 4. sıklıkta görülen kanser ve kanser nedenli ölüm sıralamasında ikinci sıradadır (216, 71). Avrupa'da 2006 yılında yapılan bir epidemiyolojik çalışmada mide kanseri tüm kanserler içinde erkeklerde 4.sırada iken kadınlarda 5.sırada saptanmış; kanser nedenli ölümler sıralamasında her iki cinsiyette de 4. sırada yer almış olduğu belirtilmiştir (217).

Coğrafi olarak en düşük insidans Kuzey Amerika, Batı Avrupa iken en yüksek insidansa sahip olduğu yerler Doğu Asya, Güney Amerika ve Doğu Avrupa' dır (218). Mide kanserinin yaklaşık %70' i gelişmekte olan ülkelerde görülmekte ve bunun yaklaşık %50' sini Doğu Asya ülkeleri oluşturmaktadır (219). Doğu Asya'da en sık görülen ülkeler Japonya, Çin ve Kore' dir (220). Bazı çalışmalarda Amerika Birleşik Devletleri' nde mide kanseri sıklığında azalma olduğu (165) belirtilse de; sık görüldüğü coğrafi bölgelerde böyle bir durum söz konusu değildir (219). Japonya'da hala kanserden ölüm nedenlerinin ilk sırasında yer alan mide kanseri yine bu ülkede kanser nedenli ölümlerin %15'ini oluşturmaktadır. (222,216).

Ülkemizde ise gastrointestinal kanserler arasında ilk sırada, tüm kanserler içinde ikinci sırada yer almaktadır (1, 161).

Yaş dağılım özelliklerine bakıldığında mide kanserinin en sık 5. ve 7. dekadlar arasında ortaya çıktığı görülmektedir (167, 183). Bizim çalışmamızda mide kanserli hastaların 5. ve 7. dekadlar arasındaki grubu tüm mide kanserlilerin % 72' si (n:18) iken; 5. dekad altı grup % 20' sini (n:5) ve 7. dekad üstü grup ise %8' ini (n:2) oluşturmaktaydı. Sonuç olarak mide kanseri grubumuz dünyada belirtilen yaş sınırlarıyla uyumlu olarak değerlendirildi.

Mide kanserinde erkek/kadın oranı farklı kaynaklara göre değişmekle birlikte 1,5-2,5 kat oranla erkeklerde daha sık görülmektedir (166, 179, 216). Türkiye' de yapılan çalışmalarda dünyadakine benzer şekilde erkek/kadın oranı 1,5-2,5 kat olarak saptanmıştır (223,224). Bizim çalışmamızda erkek/kadın oranı 1,77 (n: 16/ n: 9) olarak dünya ve Türkiye oranları ile uyumlu saptandı.

Erzurum yöresinde yapılan bir çalışmada mide kanserli kadınların yaş ortalamasının 59,6 ve erkeklerin yaş ortalamasının 62,3 olduğu ve erkekte cinsiyette mide kanserinin daha geç yaşlarda ortaya çıkıyor olabileceği üzerinde durulmuştur (224). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde mide kanserli kadınların yaş ortalaması kadınlarda 54,22 (n:9); erkeklerde 66,06 (n:16) olarak saptanmıştır.

Kanserlerde primer tümör kitlesinin de etkisi olmakla birlikte mortalitenin daha çok metastazlar sonucu olduğu bilinmektedir. Lenf ve kan dolaşımına girmiş primer tümör hücrelerinin uzak metastaz yapması kaçınılmaz bir durumdur. Kanserlerin çok erken evrelerinde dahi metastaz olduğu bildirilmektedir (179). Yapılan çalışmalarda farklı tümör modellerinde malignensi ve metastazın modifikasyonu olan gecikmiş bir anjiogenik destek oluşturacak avasküler kitleler olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmalarda bildirildiğine göre tümör hücreleri damarlanma oluşmadan

önce de dolaşıma girebilirler (225). Mide kanserlerine bağlı mortalite de sıklıkla metastazlar sonucu olmaktadır. Mide tümörünün erken evrelerinde bile metastaz olabileceğini bildiren çalışmalar vardır (226,227)

Mide kanserinin belirlenmesi için kullanılan yöntemler arasında en iyi tanı yönteminin üst gastrointestinal sistem endoskopisi olduğu belirtilmektedir. Gün geçtikçe endoskopik tetkikler ilerlemekte ve erken evre mide kanserlerinin belirlenmesi için geliştirilmektedir. Yüksek rezolüsyonlu endoskopi, kromoendoskopi, narrow band imaging (NBI), otofloresans, konfokal endoskopi,..vb gibi yöntemler erken evre mide kanseri tespitinde kullanılan yöntemlerden bazılarıdır (218, 229). Mide kanserinin endemik olmadığı ülkelerde erken evre mide kanseri yakalanma olasılığı düşüktür. Mide kanserine spesifik semptomlar bulunmadığı için veya erken evredeki hastalar sıklıkla asemptomatik olduğu için üst gastrointestinal endoskopisi gecikmektedir. Ayrıca alarm semptomları olarak belirtilen anemi, kilo kaybı, gece terlemesi,..vb semptomlar da sıklıkla ilerlemiş evredeki hastalığı göstermektedir (218). Endoskopinin invaziv olması nadiren de olsa kanama, perforasyon, ölüm gibi sonuçlara yol açığının bilinmesi kullanımını sınırlandıran etmenlerdendir (228, 231). Kore ve Japonya'da yapılan çalışmalarda gastrik kanserin erken evrede yakalanma oranının % 28,6' dan %57,7 'lere çıktığı belirtilmektedir. Batı ülkelerinde ise Japonya'nın tersine gastrik kanserin ileri evrede yakalanma oranı yaklaşık %90 civarındadır (218). Ülkemizde yapılan bir çalışmada erken gastrik kanserin saptanma oranı %5,4 olarak belirtilmektedir (230).

Fakat mide kanserini erken evrede yakalamak da yeterli olmayabilir. Çünkü erken evre mide kanserlerinde mukozal evrede %3 - 4,5 ; submukozal evrede ise %20' lere varan oranlarda lenf nodu metastazı

görülebilmektedir (227, 232). Ayrıca olgu sunumu şeklinde erken evre gastrik kanserin duodenum invazyonu, tonsil, meme ve tiroid metastazı yaptığı da bildirilmektedir (233-236)

Bu nedenlerden dolayı kanserle mücadelede farklı yöntemler denenmektedir. Kanserle mücadelede en etkili yolunun hastalığın ortaya çıkmasını engellemek olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle önceliğimiz mide kanserine neden olan faktörleri belirlemek ve ortadan kaldırmak olmalıdır (185, 225).

Uzun yıllardır yapılan çalışmalar sonucu mide kanserine yol açtığı belirtilen pek çok faktör bulunmuştur. Bunlar arasında sigara ve alkol tüketimi, diyetle ilgili faktörler ; özellikle aşırı tuz tüketimi, taze sebze meyveden yoksun beslenme , C vitamini eksikliği gibi; önemlidir (237-239). Ancak en başta gelen faktörün Helikobakter Piloni adı verilen ; prevalansı gelişmiş ülkelerde 50 yaş civarında yaklaşık %50, gelişmekte olan ülkelerde ise aynı yaşlarda yaklaşık %80 oranında görülen bir bakteri olduğu belirtilmektedir (240). Türkiye'de de gelişmekte olan ülkelere benzer şekilde erişkin yaştaki Hp prevalansı %67,6-81,3 arasındadır (241).

Hp mide kanserlerinin %75'inden sorumlu tutulmaktadır (243). Hp'nin mide kanserini 1,6-2,9 kat arasında arttırdığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca bu çalışmaların bir kısmında Hp negatif kontrol grubunda mide kanseri hiç gelişmemiştir (222, 243, 244). Hp infeksiyonunu takiben gastrik kanser riskinin izlem süresi ile doğru orantılı olduğu ve 15 yılın üzerine çıkıldığında mide kanseri riskinin yaklaşık 9 kat arttığı bildirilmektedir (245). Hp ile ilgili mide kanserine predispozan birçok faktör tanımlanmıştır; Cag A, Vac A, Bab A faktörleri bunlardan bazılarıdır (218, 246).

Kanser gelişimine neden olan bu bakterinin eradikasyonu ile kanser insidansında azalma olması beklenmektedir (247). Hp eradikasyonu ile premalign lezyonlar olan atrofik gastrit ve intestinal metaplazinin regrese olduğu bildirilmektedir (218, 248). Çin'de 435 ve Kolombiya'da 795 hastayı içeren plasebo kontrollü randomize çalışmalarda Hp eradikasyonunun IM ve displazi oranını azaltmak suretiyle gastrik kanser insidansını azalttığını savunulmuştur (249). Bu çalışmaların tersine 1630 sağlıklı Hp taşıyıcısı iki randomize gruba ayrılmış; bir grup eradikasyon alırken diğerine plasebo verilmiş. 7,5 yıl izlem sonrasında iki grup arasında gastrik kanser gelişimi açısından fark saptanmamıştır. Bu çalışma bize Hp eradikasyonun kanserden korunmada etkili olamayabileceğini göstermektedir (218).

Ne yazık ki tüm gelişmelere rağmen mide kanserinin surveyi umut edilen düzeylerde değildir. Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde ileri evre mide kanserlerinde 5 yıllık survey yaklaşık %24-27'ler civarında kalmaktadır. Japonya'da ise bu oranın %50' lere kadar yükseldiği bildirilmektedir. Bunun nedeni yapılan geniş çaplı tarama programlarına ve erken evre mide kanserlerinin tespit edilmesine bağlanmaktadır (230). En iyi sonuçların belirtildiği Japonya'da bile elde edilen %50 oranı bize iki mide kanseri hastasından birinin kaybedildiğini anlatmaktadır.

Kanserin ortaya çıkması engellenemiyorsa ikinci ve diğer etkili yol tümör gelişimini; daha malign şekle dönüşmeden önce; kolayca tedavi edilebileceği aşamada saptayabilmektir. Metastaz yapmadan önce saptanan kanserlerin çoğunda ameliyat ya da radyoterapi gibi tedavi girişimleri ile tedavi şansı elde edilebilmektedir (185).

Her ne kadar mide kanserinin erken evrede belirgin semptomları olmasa da dispeptik şikayetler nedeniyle üst gastrointestinal sistem endoskopisi yapılan hastalarda çeşitli prekanseröz lezyonlara

rastlanmaktadır. Endoskopik biyopsilerde İM rastlanma oranı yaklaşık olarak %10'dur. Ülkemizde yapılan bir çalışmada da benzer şekilde %9,6 ve %9,8 olarak saptanmıştır (116, 112). İM sıklığının yaşla birlikte arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur ve mide kanserinin de özellikle 5. dekattan sonra arttığı bilinmektedir. İM'nin 50 yaş altında %10 olan oranı; 50 yaş üzeri grupta %32' ye yükselmiş olduğu belirtilmektedir (120). Ülkemizde Akpolat tarafından yapılan bir tez çalışmasında da benzer oranlar bulunmuştur (250). Bizim çalışmamızda da 50 yaş öncesi grup %40 , 50 yaş sonrası grup %60 oranındaydı. Hp(+) İM grubunda 50 yaş üzeri grup %52; 50 yaş altı grup %48'di. Hp(-) İM grubunda ise 50 yaş üstü grup %68; 50 yaş altı grup %32 'ydi. Hp(-) İM grubunda 50 yaş üstü grup Hp(+) gruba göre anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$).

Correa tarafından tanımlanan kaskada göre kanser oluşumu atrofi, metaplazi, displazi ve karsinoma sırasını izlemektedir (109,111). Yapılan retrospektif çalışmalarda mide kanseri olanların yaklaşık %25'inde İM olduğu saptanmıştır (133). Atrofik gastrit ve İM mide kanserine, özellikle de intestinal tip mide kanserine ilerlerlemektedir. Atrofik gastritlilerde mide kanseri gelişme oranı %0-1,8 arasındadır. İM'li olgularda mide kanseri gelişme riski yaklaşık 6-30 kat artmıştır (133). Bu nedenle İM'li hastaların aralıklı olarak izlenmesinin yararlı olacağı belirtilmektedir. Farklı kaynaklara göre değişmekle birlikte 1,5- 3 yılda bir kontrol yapılmasının uygun olduğu belirtilmektedir (251,252).

Tüm gelişmelere rağmen beklenen survey oranlarının elde edilememesi nedeniyle mide kanserini teşhis etmek için alternatif metod çalışmaları hızla devam etmektedir. Bu nedenle araştırmalar son yıllarda özellikle moleküler genetik ve epigenetik alanlarında yoğunlaşmıştır. Bu yöntemlerin amacı kanser gelişmesine yatkınlık taşıyan veya kanser

oluşumunun erken evresindeki bireylerin saptanmasıdır. Bu tür kalıtsal yatkınlık; tümör baskılayıcı genlerde, onkogenlerde, onarımdan sorumlu genlerde meydana gelen mutasyonlar veya epigenetik değişiklikler sonucu görülebilmektedir. Bu genlerdeki değişikliklerin çeşitli testlerle saptanması kanserin erken tanısı ve tedavisi açısından umut vericidir (12, 185, 253).

DNA metilasyonu 1950'li yıllardan beri bilinmektedir (191), ancak genomik metilasyon kalıpları ile kanser arasındaki ilk ilişkilerin kurulması 1980'li yılların başından beri olmuştur (198). Bugüne kadar yapılmış çalışmalarda belirtilmiş yaklaşık 90 kadar hipermetile gen olduğu bildirilmektedir (199). Mide kanserinde de tanımlanmış pek çok hipermetile gen mevcuttur; DAP-kinase, E-cadherin, GSTP1, p15, p16 bunlardan bazılarıdır (214, 254). Araştırmamızda dünyada hakkında sınırlı sayıda çalışma olan GSTP1 geni hipermetilasyon profilinin saptanması ve bu sayede; mide kanserli hastalarda tümör belirteci olarak kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Glutasyon-s-transferaz (GST); glutasyon ile ilgili reaksiyonları katalizleyen enzim grubuna verilen isimdir (255). GST' ler ksenobiyotiklerin, özellikle kemoterapötik ilaçların, oksidatif stres ürünlerinin inaktive edilmesinde görev alırlar. GST'nin alt gruplarından biri de GSTP1'dir. GSTP1 özellikle karsinogenik ve toksik elektrofillerin inaktivasyonunda görevlidir (256, 257, 263).

GSTP1 ve mide kanseri ile ilgili çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (258). Uzakdoğuda yapılan iki çalışmada mide kanserli hastalardaki GSTP1 geni hipermetilasyonu %18,5 (214) ve %7 olarak saptanmıştır (215) ve her iki çalışmada da kontrol gruplarında hipermetilasyon saptanmamıştır. Polonya'da yapılan bir çalışmada ise

mide kanserli vakalarda GSTP1 geni hipermetilasyonu %3,7 oranında saptanırken kontrol grubunda hiç hipermetilasyon saptanmamıştır (260).

Hp'nin mide mukozasındaki hücrelerde promotor bölge hipermetilasyonuna yol açarak da kanserleşme sürecinde etkili olduğu belirtilmektedir (261, 254). Kronik gastritli ve Hp pozitif hastalarda eradikasyon tedavisi sonrasında E-kadherin metilasyonunun anlamlı olarak gerilediği görülmüştür (262).

Mide kanserinde en önemli genetik değişikliklerden biri olan p53 mutasyonunu kanserli olgulara eşlik eden İM'lerin %50'sinde saptanmıştır (123). Tip III İM ; diğer tiplere göre başka bir çalışmada ise p53 birikimini immunohistokimyasal metotla özellikle tip III İM'de gösterilmiştir (137). Gastrik kanserlerde yüksek oranlarda görülen promotor bölge hipermetilasyonu hMLH1, p16, DAP-kinaz gibi genlerin İM'de de saptandığı gösterilmiştir (123). Mide kanserinin karsinogenez basamaklarını oluşturan atrofi, intestinal metaplazi, gastrik adenom ve mide kanserli olguların karşılaştırıldığı bir çalışmada GSTP1 geni metilasyonu mide kanserinde %13 oranında saptanırken diğer gruplarda hiç saptanmamıştır (264).

Tüm bu çalışmalar göz önüne alınarak hakkında çok sınırlı sayıda çalışma bulunması nedeniyle mide kanserindeki GSTP1 geni metilasyon profili çalışıldı. Mide kanseri prekanseröz lezyonu olan intestinal metaplazideki değişimini belirleyerek mide kanserinin erken tanısı açısından yararlılığı araştırıldı. Ayrıca Hp pozitif ve negatif İM'li gruplar da metilasyon profil farklılığının saptanması açısından değerlendirildi. İM grupları ile kontrol grubunu arasında, Hp pozitif ve negatif İM grupları kendi arasında ve İM grupları ile mide kanseri grubu arasında elde edilen sonuçlara göre istatistiksel değerlendirmeler yapıldı. Bizim çalışmamızda

GSTP1 geni hipermetilasyonu mide kanserli hastalarda %28, Hp(+) IM grubunda %32, Hp(-) IM grubunda %28 ve kontrol grubunda %26,6 oranında saptanmıştır. Yapılan diğer mide kanseri çalışmalarıyla karşılaştırıldığında mide kanseri hipermetilasyon oranı daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu nedenle mide kanserinin önceden belirlenmesi açısından kullanımı uygun olmayabilir.

İran'da yapılan ve nonalkolik yağlı karaciğere sahip hastalar ile kontrol grubunun GSTP1 gen hipermetilasyonunun karşılaştırıldığı bir çalışmada GSTP1 geni hipermetilasyonu hasta grupta %88 kontrol grubunda %87,5 olarak saptanmıştır (265). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Tüm sonuçlar bizim coğrafyamızdaki olgularda GSTP1 geni metilasyon profilinin kullanımının anlamlı olmayabileceğini düşündürmektedir.

Heterojen metilasyon da unmetilasyon ve hipermetilasyon gibi çeşitli seviyelerde karşımıza çıkabilir. Homojen olanların aksine hem metile hem de unmetile allellerin karışımıdır. Heterojen metilasyonun neden olduğu henüz net olarak anlaşılammıştır. Örnekteki nonhomojenite veya laboratuvar koşullarına bağlı olarak meydana çıkabilir. Alınan biyopsi örneklerinin tamamının hasarlı ya da kanserli bölgeden alınmasını garantileyecek teknoloji henüz mevcut değildir. Bu nedenle alınan biyopsi örneğinde kanserli doku hücrelerinin yanında alınması muhtemel normal hücrelerin de olması belki de heterojen metilasyon nedeni olabilir. Ayrıca erken evre ya da minimal rezidüel hastalık bulgusu olarak da görülebileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Kanserlerde sıklıkla hipermetilasyon olmasına rağmen bazen heterojen metilasyon da görülebildiği belirtilmektedir (266). Bizim çalışmamızda da mide kanserli

ve Hp(+) IM'li olgularda Hp(-) IM olgularına göre anlamlı olarak daha fazla heterojen metilasyon saptandı. Ancak kontrol grubu ile mide kanseri ve Hp(+) IM grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadığı için kanser belirlenebilirliği açısından anlamlı olmadığı düşünöldü. Hp(+) ve Hp(-) IM grupları arasında farklılık olması nedeniyle kontrol grubu da kendi içinde Hp(+) ve Hp(-) olarak ayrılarak değeriendirildi. Ancak her iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı. Bu nedenle Hp'nin GSTP1 gen metilasyonuna etkili olmadığı düşünöldü.

GSTP1 gen metilasyonu ile ilgili cinsiyet açısından farklılıklar olabileceğı belirtilmektedir. GSTP1 gen metilasyonu ilgili çalışmalardan birinde mide kanserli kadınlarda %100 erkeklerde %5,6 oranında metilasyon saptandığı belirtilmiştir (260). Bizim çalışmamızda gruplara göre ayırım yapılmaksızın kadın olgularda GSTP1 geni hipermetilasyonu kadınlarda %25 ; erkeklerde ise %32,6 olarak saptandı. Mide kanseri grubunda ise kadın olgularda %22,22 ; erkek olgularda %31,25 olarak saptandı, ancak istatistiksel açıdan anlamlı olarak değeriendirilmedi ($p < 0,05$). Hp(+) IM grubunda kadınlara %36,6 erkeklerde %28,57 idi ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$). Hp(-) IM grubunda kadınlarda %21,2 erkeklerde %36 oranındaydı ve erkek olgularda anlamlı olarak daha yüksek orandaydı. Sonuçta metilasyon profili açısından cinsiyetler arasında belirgin bir farklılık olmadığı düşünöldü.

Tüm sonuçlar bir arada değeriendirildiğinde GSTP1 geni metilasyon profilinin mide kanserli olgularda erken tanı açısından kullanılmasının uygun olmadığı düşünölebilir. Fakat kontrol grubu olarak seçtiğimiz dispeptik şikayetleri olan ancak patolojik ve endoskopik olarak normal olan olgularda da yüksek oranda metilasyon ve unmetilasyon saptanmış

olması düşündürücüdür. Her ne kadar řu an elimizdeki mevcut tekniklerle bu olguların normal olduğunu düşünsek de bu hastalarda henüz daha hücresele düzeyde başlamış karsinogenez olduğunu ya da olmadığını kesin olarak söyleyemeyiz. Bu nedenle bu olguların da ileriye yönelik daha yakın takip edilmesi uygun olabilir.

Sonuç olarak kesin sonuçlar elde edilebilmesi için daha geniş kapsamlı ve gereğinde tüm ülkeyi içine alacak şekilde çalışmalar yapılması gerektiği düşünölmektedir.

VI. SONUÇ VE ÖNERİLER:

Celal Bayar Üniversitesi ve İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma hastanesinden toplam 90 hasta çalışmaya dahil edildi. Olgular dört gruba ayrıldı: Mide kanseri, Hp(+) IM, Hp(-) IM ve kontrol grubu. Gruplardan doku örnekleri alındı, GSTP1 gen metilasyon profilleri saptanarak değerlendirildi.

Mide kanserinde erken tanı amaçlı araştırılan GSTP1 geni metilasyon profili açısından dünyada yapılan kısıtlı sayıdaki çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında mide kanserli hastalarda hipermetilasyon belirgin derecede yüksek (%28) olarak saptandı. Ancak kontrol grubunda da hipermetilasyonun %26,6 oranında olması nedeniyle mide kanseri erken belirlenebilirliği açısından kullanımın uygun olmayacağı düşünüldü.

Mide kanserinin erken tanısı açısından pek çok genetik çalışma yapılmakta ve bunların bir kısmını da prekanseröz lezyonlar ile ilgili çalışmalar oluşturmaktadır. Daha kansere dönüşümün olmadığı evrede risk taşıyan hastaları saptamanın tedavi ve survey açısından yararlı olacağı düşünülmektedir. Mide prekanseröz lezyonu olan intestinal metaplazi açısından GSTP1 gen hipermetilasyon profiline bakıldığında kontrol grubu ile Hp pozitif IM ve Hp negatif IM grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Ancak daha kesin sonuçlar elde edilebilmesi için daha geniş hasta sayısı içeren çalışmaların yapılmasının daha yararlı olacağı düşünüldü.

VII. ÖZET

Mide adenokarsinomu dünyadaki en yaygın malignitelerden biridir. Mide kanser gelişimi çok basamaklı seyir gösterir. Mide kanseri oluşumunda çok sayıda epigenetik ve genetik değişiklikler tespit edilmiştir. GSTP`ler detoksifikasyondan sorumlu enzim ailesidir. GSTP1 geni metilasyon profilini ile pek çok kanser arasında bağlantı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak epigenetik mekanizmaları net değildir. Bu nedenle çalışmamızda mide kanserli, H.pilori (+) ve (-) intestinal metaplazili hasta grupları arasındaki GSTP1 geni promotör metilasyon profilinin araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmamızda histopatolojik olarak intestinal metaplazi ve mide kanseri tanısı almış hastalar dahil edildi. Bu hastalara üst gastrointestinal sistem endoskopisi uygulandı ve taze biyopsi örnekleri toplandı. Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi ve İzmir Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dallarından 25 HP(+), 25 HP(-) intestinal metaplazili ve 25 mide tümörlü hastaların midelerinden biyopsi örneği alındı. Kontrol grubu olarak Celal Bayar Üniversitesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'na başvuran üst gastrointestinal yakınması olup, toplanan biyopsilerinde intestinal metaplazi ve mide kanseri saptanmayan 15 sağlıklı bireyden tanı için alınmış biyopsi örneklerinden kontrol grubu çalışma materyali oluşturuldu. GSTP1 gen metilasyonu

saptanması açısından sodyum bisulfit modifikasyonu sonrasında metilasyona spesifik PCR yapıldı ve değerlendirildi. İstatistiksel analizde hasta grupları ve metilasyon durumları arasındaki korelasyonu bulmak için ki-kare testi kullanıldı.

GSTP1 promotor bölge hipermetilasyonu analizinde, mide kanseri grubunda metilasyon %28, unmetilasyon %24 ve heterojen metilasyon %48 oranında; Hp(-) intestinal metaplazi grubunda metilasyon %28, unmetilasyon %52, heterojen metilasyon %20 oranında; Hp(+) intestinal metaplazi grubunda metilasyon %32 , unmetilasyon %24, heterojen metilasyon %44 oranında ve kontrol grubunda metilasyon %26,6, unmetilasyon %40 , heterojen metilasyon %33,34 saptandı. Gruplar arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmalar sonucunda; hipermetilasyon açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Kontrol grubunda da metilasyon oranı %26,6 olduğundan GSTP1 geni hipermetilasyonunun mide kanseri erken tanısında kullanımının uygun olmayacağı düşünüldü.

Daha fazla olgu sayısı ile daha kesin sonuçlar elde edilebileceği ve mide kanserinin erken tanısı sayesinde morbidite ve mortalitenin azaltılabileceği ve bu açıdan genetik ve epigenetik çalışmaların ilerletilmesinin yararlı olacağı düşünüldü.

VIII. İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

Gastric cancer is one of the most common cancers in the world. Progression of gastric carcinogenesis is multi-step. A lot of genetic and epigenetic alterations have been identified. The GSTP's are the family of enzymes that are critical rol in the detoxification. There for in this study, *GSTP1* gene methylation profiles were analyzed in gastric cancer, Hp(-) and Hp(+) intestinal metaplasia groups.

The patients who have been diagnosed histopathologically gastric cancer and intestinal metaplasia were included in our study. These patients underwent upper gastrointectinal endoscopy and fresh biopsy specimens were collected. From Department of Gastroenterology Celal Bayar University Medical Faculty and Department of Gastroenterology İzmir Atatürk Training and Research Hospital 25 gastric cancer, 25 Hp(-) and 25 Hp(+) intestinal metaplasia patients were included in our study. As a control group (n:15) was performed from who were admitted Department of Gastroenterology Celal Bayar University Medical Faculty with upper gastrointestinal complaints and who has been histopathologically not diagnosed with gastric cancer and intestinal metaplasia. The methylation status of GSTP1 gene was analyzed by methylation . Statistical analyses

were performed to detect the correlation between the methylation profiles and the subject groups with chi-square test.

Analysis of the GSTP1 gene methylation profile is; in gastric cancer methylation was %28, unmethylation was %24, heterogeneous methylation was %48; In Hp(-) intestinal metaplasia group methylation was %28, unmethylation was %52, heterogeneous methylation was %20; In Hp(+) intestinal metaplasia group methylation was %32, unmethylation was %24, heterogeneous methylation was %44; In control group methylation was %26,6 , unmethylation was %40 , heterogeneous methylation was %33,34. The statistical significant difference were not found between all groups about methylation of GSTP1 gene. Because of the control group methylation %26,6, GSTP1 methylation profile is not suitable for early diagnosis of gastric cancer.

Early diagnosis of gastric cancer can decrease morbidity and mortality. The progress of genetic and epigenetic studies is thought to be useful in this regard. However for determination of gastric cancer relationship can be established with a larger number of subjects

KAYNAKLAR:

1. Yeğin İ, Yılmaz Ö, Aydınlı B, Çayır K, Gepdiremen S, Pirim İ, Başol Tekin S. Frequency of loss of heterozygosity of E-cadherin gene in gastric cancer. Akademik Gastroentoloji Dergisi, 2006; 5 (3): 149-152.
2. Fei BY, Xia B, Deng CS, et al. Association of tumor necrosis factor genetic polymorphism with chronic atrophic gastritis and gastric adenocarcinoma in Chinese Han population. World J Gastroenterol 2004; 10: 1256-1261
3. Danesh J. Helicobacter pylori infection and gastric cancer: systematic review of the epidemiological studies. Aliment Pharmacol Ther 1999;13: 851-856
4. Eslick GD, Lim LL, Byles JE, Xia HH, Talley NJ. Association of Helicobacter pylori infection with gastric carcinoma: a meta-analysis. Am J Gastroenterol 1999; 94: 2373-2379
5. Sugiyama T. Development of gastric cancer associated with Helicobacter pylori infection. Cancer Chemother Pharmacol 2004; 54: 12-20
6. Guarner J, Mohar A, Parsonnet J, Halperin D. The association of Helicobacter pylori with gastric cancer and preneoplastic gastric lesions in Chiapas, Mexico. Cancer 1993; 71: 297-301

7. Cahill RJ, Kilgallen C, Beattie S, Hamilton H, O'Morain C. Gastric epithelial cell kinetics in the progression from normal mucosa to gastric carcinoma. *Gut* 1996; 38:177-
8. Steininger H, Faller G, Dewald E, Brabletz T, Jung A, Kirchner T. Apoptosis in chronic gastritis and its correlation with antigastric autoantibodies. *Virchows Arch* 1998; 433:13-18
9. Safatle-Ribeiro AV, Ribeiro U Jr, Clarke MR, et al. Relationship between persistence of *Helicobacter pylori* and dysplasia, intestinal metaplasia, atrophy, inflammation, and cell proliferation following partial gastrectomy. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 243-252
10. Örgen Çallı A, Ekinci N, Akder Sarı A, F Dağ. Expression of p53 Protein in Adenomacarcinomas of stomach and its relationship with other conventional prognostic factors. *Ege Tıp Dergisi* 2002 41 (1): 1 – 6.
11. Hamilton JP, Meltzer SJ. A review of the genomics of gastric cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 416-25.
12. D.B. Sayın. Metilasyon ve kanser. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008, 28:513-524
13. Kim J, Lee HS, Bae SI, Lee YM, Kim WH. Silencing and CpG island methylation of GSTP1 is rare in ordinary gastric carcinomas but common in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas. *Anticancer Reserach* 2005 Nov-Dec;25(6B):4013-9.
14. Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. *J Clin Pathol.* 1986 Apr;39(4):353-65.
15. Blaser MJ. *Helicobacter pylori* phenotypes associated with peptic ulceration. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1994; 205:1-5.
16. Dooley CP Background and historical considerations of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am.* 1993 Mar;22(1):1-4

17. Goodwin CS, Worsley BW. Microbiology of Helicobacter pylori. *Gastroenterol Clin North Am.* 1993 Mar;22(1):5-19.
18. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 354-362.
19. Graham DY, Adam E, Reddy GT, et al. Seroepidemiology of Helicobacter pylori infection of developing and developed countries. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 1084-1388.
20. Yamamoto S. Stomach cancer incidence in the world. *Jpn J Clin Oncol.* 2001; 31: 471-477.
21. Malaty H. Epidemiology of Helicobacter pylori infection. *Clin Gastroenterol* 2007; 21: 205-214.8. Al-Moagel MA, Evans DG, Abdulghani ME, et al. Prevalence of Helicobacter pylori in Saudi Arabia and comparison of those with and without upper gastrointestinal symptoms. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 944-948.
22. Malaty HM., Graham DY., Isaaksson I, et al. A Cotwin study of the effected environment on Helicobacter pylori acquisition. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 793-797.
23. Gümürdülü Y, Taşdoğan BE. Peptik Duodenal ve Gastrik Ülserler Aynı mı Değil mi? *Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol Special Topics* 2009; 2(3):14-18
24. Malaty HM, Evans DG, Evans Jr DJ, et al. Helicobacter pylori infection in Hispanics: comparison with Blacks and Whites of similar age and socioeconomic class. *Gastroenterology* 1992; 103: 813-816.
25. Malaty HM, Engstrand L, Pedersen NL, et al. Genetic and environment influences of Helicobacter pylori infection: a twin study. *Ann Intern Med* 1994; 129: 982-986.

26. Anonymous. Epidemiology of, and risk factors for *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. The EUROGAST Study Group. *Gut* 1993;34:1672-6.
27. Megraud F. Epidemiology of *H. Pylori* infection. *Gastroenterol Clin North Am.* 1993; 22(1):73-88.
28. Dore MP, Malaty HM, Bilotta M, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children: comparison between industrial and rural areas in Italy. *Clin Infect Dis.* 2002; 35: 240-245.
29. Nurgalieva Z, Malaty HM, Graham DY, et al. *Helicobacter pylori* infection in Kazakhstan; effect of water source and household hygiene. *Am J Trop Hyg* 2003; 67: 201-206.
30. Roplogle ML, Glaser SL, Hiatt RA, Parsonnet J. Biologic sex as a risk factor for *Helicobacter* infection in healthy young adults. *Am J Epidemiol* 1995;142:856-863.
31. Forman D Prevalence of *H. pylori* infection in gastric cancer. *Alimentary Pharmacol Ther* 9 1995; 2: 71 -76
32. Hopkins RJ, Vial PA, Ferreccio C, et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Chile: vegetables many serve as one route of transmission. *J Infect Dis* 1993; 168: 222 -226.
33. Bielanski W. Epidemiological study on *Helicobacter pylori* infection and extragastrroduodenal disorders in Polish population. *J Physiol Pharmacol* 1999; 50: 723-733.
34. Megraud F. Epidemiology of *H. Pylori* infection. *Gastroenterol Clin North Am.* 1993. 22(1):73-88.
35. Peek R, Miller GG, Tham KT et al. Heightened inflammatory response and cytokine expression in vivo to Cag A *Helicobacter pylori* strains. *Lab Invest* 1995.71:1237-1241

36. Eaton KA, Morgan DR, Krakowka S. Campylobacter pylori virulence factors in gnotobiotic piglets. *Infect Immun* 1989; 57: 1119.
37. Scott D, Weeks D, Melchers K, et al. The life and death of Helicobacter pylori. *Gut* 1998; 43 (suppl. 1): S56.
38. Logan RP. Adherence of Helicobacter pylori. *Aliment Pharmacol Ther.* 1996 Apr;10 Suppl 1:3-15.
39. Correa P, Fox C, Fontham E, Ruiz B, Lin Y, Zavala D. Helicobacter pylori and gastric carcinoma: Serum antibody prevalence in populations with contrasting cancer risk. *Cancer* 66: 2569-74, 1990.
40. Blaser MJ, Atherton JC. Helicobacter pylori persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 2004; 113: 321-333.
41. Sobala GM, Crabtree JE, Dixon MF, et al. Acute Helicobacter pylori infection: clinical features, local and systemic immune response. *Gut* 1991; 32: 1415-1418.
42. Harford WV, Barnett C, Lee E, et al. Acute gastritis with hypochlorhydria: report of 35 cases with long-term follow up. *Gut* 2000; 47: 467-472.
43. Mobley HLT. The role of H. Pylori urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration: *Aliment Pharmacol Ther.* 1996; 10(1) : 57-64.
44. Did EJ, Hail LR, Romero A. An explanation for enhanced gastric response to meal in patients with H. Pylori infection. *Gastroenterology* 1994;106(2):70
45. Nilius M, Malfertheiner P. Helicobacter Pylori enzymes: *Aliment Pharmacol Ther.* 1996; 10(1) : 65-71.

46. Blaser MJ, Kobayashi K, Clover TL, Cao P, Feurer D, Perez-Perez GI: Helicobacter pylori infection in Japanese patients with adenocarcinoma of the stomach. *Int J Cancer* 1993; 55(5): 799-802.
47. Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T. Gastric cancer and Helicobacter pylori. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57: 51-65.
48. Onishi N, Yuasa H, Tanaka S, et al. Transgenic expression of Helicobacter pylori CaA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasia in mouse. *Proc Natl Acad Sc USA*, 2008; 105: 1003-1008.
49. Pan Z, Van der Hulst RWM, Tytgat GNJ, Dankert J, Van der Ende A. Relation between Vac A subtypes, cytotoxin activity and disease in Helicobacter Pylori - infected patients from the Netherlands. *The Am J Gastroenterol* 1999. 94 (6): 1517-1521
50. Cover TL, Blanke SR. Helicobacter pylori VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nat Rev Microbiol* 2005; 3: 320-332.
51. Wen S, Moss SF. Helicobacter pylori virulence factors in gastric carcinogenesis. *Cancer Lett* 2008; 10: 1016-1023.
52. Yamaoka Y, Kikuchi S, el-Ziniaty HM, Gutierrez O, Osato MS, Graham DY. Importance of Helicobacter pylori OipA in clinical presentation, gastric inflammation and mucosa interleukin 8 production. *Gastroenterology* 2002; 123: 414-424.
53. Aspholm-Hurting M, Dailide G, Lahmann M, et al. Functional adaptation of BabA of the H. pylori ABO blood group antigen binding adhesion. *Science* 2004; 305: 519-522.
54. Ilver JP, Arnqvist A, Ogren J, et al. Helicobacter pylori adhesion binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* 1998; 279; 573-377.

55. Mahdavi J, Sonden M, Hurting M, et al. Helicobacter pylori SabA adhesion in persistent infection and chronic inflammation. Science 2002, 297:573-578
56. Gerhard M, Lehn N, Neumayer T, et al. Clinical relevance of the Helicobacter pylori gene for blood group antigen-binding adhesion. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 12778-12783.
57. Ernst PB, Jin Y, Reyes VE, Crowe SE. The role of local immune response in the pathogenesis of peptic ulcer formation. Scand J Gastroenterol , 1994: 29 (205): 22-28.
58. Marshall BJ. Helicobacter Pylon: Ann Gastroenterol. 1994: 86:116-126.
59. Osawa H, Inoue F, Yoshido Y: Inverse relation of serum H.Pylori antibody and extent of intestinal metaplasia. J Clin Pathol. 1996: 49: 112-115
60. Kocazeybek B, Memişoğlu R, Memişoğlu N ve ark. Helikobakter pilori infeksiyonlarında dışkıda antijen saptama: Tanı ve tedavi sonrası eradikasyonun izlenmesindeki rolü. Turkish J of Infect. 2003; 17 (4): 399-403.
61. Chey WD, Murthy U, Toskes P, Carpenter S et al. The 13C-Urea Blood test accurately detects H.Pylori infection: A United States, multicenter trial Am J Gastroenterol 94 (6): 1522-1525, 1999.
62. Parsonnet J, Friedmann GD, Wandersteen DP, Cheng Y. H.Pylori infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med 325: 1127-1131, 1992.
63. Parsonnet J.H.pylori. Infect Dis Clin North Am. 1998; 12: 185-97
64. Peterson WL, Graham DY.H.pylori.Sleisenger and Fortrans Gastrointestinal and Liver Disease. 1998; 1: 604-619

65. You WC, Blot WJ, Li JY, Chang YS, Jin ML, Kneller R et al. Precancerous gastric lesion in a population at high risk of stomach cancer. *Cancer Res* 1993; 53(6): 1317-21.
66. Kullpers EC, Apelmelk BJ. H.pylori and atrophic gastritis. *Biomed and Pharmacother.* 1996; 51: 150-155
67. Manuel D, Cutler A, Goldstein J, Fennerty MB, Brown K. Decreasing prevalence combined with increasing eradication of *Helicobacter pylori* infection in the United States has not resulted in fewer hospital admissions for peptic ulcer disease-related complications. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Jun 15; 25(12): 1423-7
68. Tamara Matysiak-Budnik, et al *Helicobacter pylori* and Non-Malignant Diseases 2006. *Helicobacter*(Suppl. 1): 27–31
69. Stolte M. *Helicobacter pylori* gastritis and gastric MALT-lymphoma *Lancet.* 1992 Mar 21; 339(8795): 745-6
70. Roggero E, Zucca E, Pinotti G, Eradication of *Helicobacter pylori* infection in primary low-grade gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Ann Intern Med.* 1995 May 15;122(10): 767-9.
71. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2002; 55: 74-108.
72. Berrino F. The Eurocare study; strengths, limitations and perspectives of population-based, comparative survival studies. *Ann Oncol* 2003; 14 (Suppl 5): 9-13.
73. Smith MG, Hold GL, Tahara E, et al. Cellular and molecular aspects of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2979-2990.
74. Eslick GD. *Helicobacter pylori* infection causes gastric cancer. A review of the epidemiological, meta-analytic and experimental evidence. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2991-2999.

75. Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yarnell JW, Stacey AR, Wald N, Sitas F. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *BMJ* 1991; 302: 1302-5.
76. Schistosomes, Liver Flukes and *Helicobacter pylori*. In: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol 61: Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 1994.
77. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 784-789.
78. Huang JQ, Zheng GF, Sumanac K, Irvine EJ, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between *cagA* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 2003; 125: 1636-1644.
79. Danesh J. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer: systemic review of the epidemiological studies. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 851-856.
80. Wong BC, Lam SK, Wong WM, et al. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 344-346.
81. Forman D, Pisani P. Gastric cancer in Japan - honing treatment, seeking causes. *New Engl J Med* 2008; 359: 448-451.
82. Siman JH, Enstrang L, Berglund G, Forsgren A, Floren CH. *Helicobacter pylori* and *CagA* seropositivity and its association between gastric and esophageal carcinoma. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 933-940.

83. Konturek SJ, Starzynska T, Konturek PC, et al. Helicobacter pylori and CagA status, serum gastrin, interleukin-8 and gastric acid secretion in gastric cancer. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 891-898.
84. Lochhead P, El-Omar EM. Helicobacter pylori infection and gastric cancer. *Clin Gastroenterol* 2007; 21: 81-297.
85. Higashi H, Tsutsumi R, Fujita A, et al. Biological activity of the Helicobacter pylori virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99: 14428–33.
86. Basso D, Zambon CF, Letley DP, et al. Clinical relevance of Helicobacter pylori cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology*. 2008; 135: 91–9.
87. Atherton JC, Peek R M, Tham KT. Clinical and pathological importance of heterogeneity in vac A, the vacuolating cytotoxin gene of Helicobacter Pylori. *Gastroenterology* 1997; 112: 92-99.
88. Torres WJ, VanCompernelle SE, Sundrud MS, Unutmaz D, Cover TL. Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin inhibits activation-induced proliferation of human T and B lymphocyte subsets. *J Immunol* 2007; 179: 5433-5440.
89. Yamac D, Ayyildiz T, Coskun U, et al. Cyclooxygenase-2 expression and its association with angiogenesis, Helicobacter pylori, and clinicopathologic characteristics of gastric carcinoma. *Pathol Res Pract* 2008; 204: 527-36
90. Li Q, Liu N, Shen B, et al. Helicobacter pylori enhances cyclooxygenase 2 expression via p38MAPK/ATF-2 signaling pathway in MKB45 cells. *Cancer Lett* 2009; 278: 97-103.

91. Iwamoto J, Mikoizami Y, Takahashi K, Matsuoka T, Matsuzaki Y. The effects of cyclooxygenase-2-prostaglandin E2 pathway on Helicobacter pylori-induced urokinase-type plasminogen activator system in the gastric cancer cells. *Helicobacter* 2008; 13: 174-182
92. Konturek PC, Kania J, Kukharski V, et al. Influence of gastrin on the expression of cyclooxygenase-2, hepatocyte growth factor and apoptosis-related proteins in the gastric epithelial cells. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 17-25.
93. Guo XL, Wang LE, Du SY, et al. Association of cyclooxygenase-2 expression with high Hp-cagA infection in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 246-252.
94. Walduck AK, Weber M, Wunder C, et al. Identification of novel cyclooxygenase-2-dependent genes in Helicobacter pylori infection in vivo. *Mol Cancer* 2009; 8: 22-30.
95. Honda S, Fujioka T, Tokieda M, Satoh R, Nishizono A, Nasu M. Development of Helicobacter pylori-induced gastric carcinoma. *Cancer Res* 1998; 58: 4255-4259.
96. Watanabe T, Tada M, Nagai H, et al. Helicobacter pylori infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. *Gastroenterology* 1998; 115: 642-648.
97. Brzozowski T, Konturek PC, Mierzwa M et al. Effects of probiotics and triple eradication therapy on the cyclooxygenase (COX-2) expression, apoptosis and functional gastric mucosal impairment in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils. *Helicobacter* 2006; 11: 10-20.
98. Konturek PC, Bielanski W, Bobrzynski A, Hahn EG, Konturek SJ. Gastric mucosal expression and luminal release of growth factors in gastric carcinoma and duodenal ulcer patients before and after

- eradication of *Helicobacter pylori*. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48: 375-382.
99. Wang TC, Dangler CA, Chen D, et al. Synergistic interaction between hypergastrinemia and *Helicobacter pylori* in a mouse model of gastric cancer. *Gastroenterology* 2000; 118: 36-47.
100. Wang L, Shi GG, Yao JC, et al. Expression of endothelial nitric oxide synthase correlates with angiogenic phenotype of and predicts poor prognosis in human gastric cancer. *Gastr Cancer* 2005; 8: 18-28.
101. Ohshimura H, Tatemichi M, Sawa T. Chemical basis of inflammation-induced carcinogenesis. *Arch biochem Biophys* 2003; 417: 3-11.
102. Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T. *Helicobacter pylori* infection in gastric cancerogenesis. *Journal Of Physiology And Pharmacology* 2009; 60: 3: 3-21
103. Rosai J. Stomach. In: Rosai and Ackerman's surgical pathology. Ninth edition. New York: Mosby; 2004:p. 648-86.
104. Stemmermann GN. Intestinal metaplasia of the stomach. *Cancer* 1994; 74: 556-64.
105. Ste Mingazzini P, Carlei F, Malchiodi-Albedi F, et all. Endocrine cell in intestinal metaplasia of the stomach. *J Pathol* 1984; 144(3): 171-8.
106. Jaas JR. Role of intestinal metaplasia in histogenesis of gastric carcinoma. *J Clin Pathol* 1980; 33(9): 801-10.
107. Filipe MI. Mucins in the human gastrointestinal epithelium. A review. *Invest Cell Pathol*.1979; 2:195-216.
108. Gregory Y. Lauwers. Defining the pathologic diagnosis of metaplasia, atrophy, dysplasia, and gastric carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36 (1): 37-43.

109. Correa P, Cuello C, Duque E. Carcinoma and intestinal metaplasia of the stomach in Columbian migrants. *Journal of the National Cancer Institute* 1970; 44: 297-306.
110. Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 1975; 2 (7924): 58-60.
111. Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Research* 1988; 48: 3554- 3560.
112. Balaban S, Filiz G, Gürel S ve ark. Kronik Gastrit Olgularında İntestinal Metaplazi Sıklığı ve İntestinal Metaplazi İle Helicobacter Pylori İlişkisi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2008; 34 (1): 1-4.
113. Rugge M, Di Mario F, Cassaro M, Baffa R, Farinati F, Rubio j JR, Ninfo V. Pathology of the gastric antrum and body associated with Helicobacter pylori infection in nonulcerous patients: is the bacterium a promoter of intestinal metaplasia? *Histopathology* 1993; 22: 9-15.
114. Genta RM, Gürer IE, Graham DY. Geographical pathology of Helicobacter pylori infection: is there more than one gastritis? *Ann Med* 1995; 27: 595-599.
115. Filipe MI, Potet F, Bogomoletz WV, et all. Incomplete sulphomucin-secreting intestinal metaplasia for gastric cancer. Preliminary data from a prospective study from three centres. *Gut*. 1985; 26(12): 1319-26
116. Sarı A, Karahan N, İslar M, ve ark. Isparta yöresinde mide endoskopik biyopsilerinde İntestinal metaplazi sıklığı. *SDÜ Tıp Fak Dergisi*, 2000; 7(1): 1-3.
117. Atik E, Kantarçeken B, Bülbüloğlu E, ve ark. Helicobacter pylori pozitif ve negatif hastalarda intestinal metaplazi ve displazi sıklığı. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 2005; 4 (3): 168-171

118. Kim HJ, Choi BY, Byun TJ, et al. The prevalence of atrophic gastritis and intestinal metaplasia according to gender, age and Helicobacter pylori infection in a rural population. . J Prev Med Public Health. 2008 Nov; 41(6): 373-9.
119. Eriksson NK, Karkkainen PA, Farkkila MA, Arkkila PE. Prevalence and distribution of gastric intestinal metaplasia and its subtypes. Dig Liver Dis. 2008; 40(5): 355-60.
120. Craanen, Dekker W, Blok P, Ferwerda J, Tytgat GNJ. Intestinal metaplasia and Helicobacter pylori: an endoscopic optic study of the gastric antrum. Gut 1992; 33: 16-20.
121. Pintalhao M, Dias-Neto M, Peleteiro B, Lopes C, Figueiredo C, David L, Lunet N. Salt intake and type of intestinal metaplasia in Helicobacter pylori-infected Portuguese men. Nutr Cancer. 2010; 62(8): 1153-60.
122. Fox JG, Dangler CA, Taylor NS, King A, Koh TJ, Kang TC. High-salt diet induces gastric epithelial hyperplasia and parietal cell loss and enhances Helicobacter colonization in C57BL/6 mice. Cancer Res 1999; 59: 4823-8.
123. Leung WK, Sung J.J. Review article: intestinal metaplasia and gastric carcinogenesis. Aliment Pharmacol Ther 2002; 16: 1209–1216.
124. Walker MM. Is intestinal metaplasia of the stomach reversible? Gut 2003; 52: 1–4.
125. Sipponen P, Hyvarinen H, Seppala K. Review article: pathogenesis of the transformation from gastritis to malignancy. Aliment Pharmacol Ther 1998; 12: 61–71.
126. Guarner J, Herrera-Goepfert R, Mohar A, Sanchez L, Halperin D, Ley C, Parsonnet J. Gastric atrophy and extend of intestinal metaplasia

- in a cohort of *Helicobacter pylori* infected patients. *Hum Pathol* 2001; 32: 31-5.
127. Dixon MF. *Helicobacter pylori* and peptic ulceration: histopathologic aspects. *J Gastroenterol Hepatol* 1991;6:125-30.
128. Genta RM, Gürer IE, Graham DY. Adherence of *Helicobacter pylori* to areas of incomplete intestinal metaplasia in the gastric mucosa. *Gastroenterology* 1996;111:1206-1211.
129. Ota H, Katsuyama T, Nakajima S, El-Zimaity H, Kim JG, Graham DY, Genta RM. Intestinal metaplasia with adherent *Helicobacter pylori*: a hybrid epithelium with both gastric and intestinal features. *Hum Pathol* 1998; 29: 846-50.
130. Filipe MI, Munoz N, Matko I, et al. Intestinal metaplasia types and the risk of gastric cancer: a cohort study in Slovenia. *Int J Cancer* 1994; 57: 324-9.
131. Rokkas T, Filipe MI, Sladen GE. Detection of an increased incidence of early gastric cancer in patients with intestinal metaplasia Type III who are closely followed up. *Gut* 1991; 32: 1110-3.
132. You WC, Li JY, Blot WJ, et al. Evolution of precancerous lesions in a rural Chinese population at high risk of gastric cancer. *Int J Cancer* 1999;83:615-9.
133. Shin WG, Kim HU, Song HJ, et al. Surveillance Strategy of Atrophic Gastritis and Intestinal Metaplasia in a Country with a High Prevalence of Gastric Cancer. *Dig Dis Sci.*2011; DOI 10.1007/s10620-011-1919-0
134. Cassaro M, Rugge M, Gutierrez O, Lenadro G, Graham DY, Genta RM. Topographic patterns of intestinal metaplasia and gastric cancer. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:1431- 8.

135. Leung WK, Yu J, To KF, et al. Apoptosis and proliferation in Helicobacter pylori-associated gastric intestinal metaplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:1467-72.
136. Shiao Y, Rugge M, Correa P, Lehmann PP, Scheer WD. p53 alteration in gastric precancerous lesion. *Am J Pathol* 1994;144:511-7.
137. Wu MS, Shun CT, Lee WC, Chen CJ, Wang HP, Lee WJ, Sheu JC, Lin JT. Overexpression of p53 in different subtypes of intestinal metaplasia and gastric cancer. *Br J Cancer* 1998;78:971-3.
138. Dubois RN. Review article: cyclooxygenase – a target for colon cancer prevention. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14 (Suppl 1):64-7.
139. Sung JJ, Leung WK, Go MY, To KF, Cheng AS, Ng EK, Chan FK. Cyclooxygenase-2 expression in Helicobacter pylori-associated premalignant and malignant gastric lesions. *Am J Pathol* 2000;157:729-35.
140. Satoh K, Mutoh H, Eda A, et al. Aberrant expression of CDX-2 in the gastric mucosa with and without intestinal metaplasia: Effect of eradication H. Pylori. *Helicobacter* 2002;7:192-8.
141. Ohata H, Kitauchi S, Yoshimura N, et al. Progression of chronic atrophic gastritis associated with Helicobacter pylori infection increases risk of gastric cancer. *Int J Cancer* 2004;109:138-43.
142. Kang GH, Lee HJ, Hwang KS, et al. Aberrant CpG island hypermethylation of chronic gastritis, in relation to aging, gender, intestinal metaplasia, and chronic inflammation. *Am J Pathol*. 2003 Oct;163(4):1551-6
143. Satoh K. Does eradication of Helicobacter pylori reverse atrophic gastritis or intestinal metaplasia? Data from Japan. *Gastroenterol Clin North Am* 2000;29:829–35

144. Orhan Kuran. Systema Digestorum- Sindirim Sistemi, Ventriculus Gaster- Mide, Sistemik Anatomi .Filiz kitapevi, Prof. Dr. Orhan Kural, editör 1983, sayfa: 388- 396.
145. Dere F. Anatomi Atlası ve Ders kitabı, II Cilt, Adana, Nobel Tıp Kitapevi, 1999:881-894
146. Odar N. Anatomi Ders Kitabı. Elif matbaacılık. 12.baskı, Ankara 1979 ss: 280-285
147. Arıncı K, Elhan A. Anatomi I.Cilt , Güneş kitapevi, Ankara 2001, ss: 241-245
148. Victor P. Eroschenko. Digestive System; Esophagus and Stomach In: Di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations, Middle East Edition, 8th ed. Mass Publishing CO; 1996 Chapter Twelve :171-191
149. Junquiera L-C, Corneiro J, Keley R.O, Basic Histology (7th ed). Ed. Aytakin Y.,Barış Kitapevi, İstanbul 1993, ss: 346-356
150. Cormack D.H. Clinically Integrated Histology, Lippincott-Raven, New York 1998:192-196.
151. Fawcett D.WA. Textbook of Histology (12th ed.) Chapman Hall, London 1994, pp: 599-615
152. Sadler TW. Longman's Medical Embriology (7th ed.). W.W.A. Waverly Company, London 1990, pp: 239-242
153. Chan AO, Wong BC, Lam SK. Gastric cancer: Past, present and future. Can J Gastroenterol 2001; 15: 469-474.
154. Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. N Engl J Med. 1995; 333: 32-41

155. Li-Hua Hu, Feng-Hua Chen, Yi-Rong Li, Lin Wang. Real-time determination of human telomerase reverse transcriptase mRNA in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2004; 10 (23) 3514-3517.
156. Christian T.K.-H.Stadtlander, John W.Waterbor. Molecular epidemiology, pathogenesis and prevention of gastric cancer. *Carcinogenesis* 1999; 20(12); 2195–2207
157. Correa P. Human Gastric Carcinogenesis: A multistep and Multifactorial Process – First American Cancer society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Research* 1992; 52:6735–6740.
158. Fenoglio-Preiser C, Carneiro F, Correa P, et all. Gastric Carcinoma. *Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System*. 2000; 3: 37–66.
159. Eğilmez R, Arıcı S, Aker H. Mide kanserleri. *Türk Neoplazi Dergisi* 1995; 3: 67-71.
160. Bilici M, Cayır K.Mide Kanseri ve HLA. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2005; 3(2): 44-46.
161. *Kanserle Savaş Politikası ve Kanser Verileri (1995-1999)*, T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı, Ankara 2002:12-16
162. Sümer H. Özdemir L, Koçoğlu G, Polat HH. Sivas ili kanser kayıt merkezi verilerinin değerlendirilmesi. *Türk Neoplazi Dergisi* 1999; 7: 29-32.
163. Eğilmez R, Düzcan E. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda kanser sıklığı üzerine bir çalışma. *Türk Neoplazi Dergisi* 1992; 1: 37-42.

164. Wang TL, Koh TJ. Tumors of the stomach. Sleisenger and Fortdran's Gastrointestinal and liver disease. 2002 ;7: 829-848
165. Roger Der and Parakrama Chandrasoma. Gastric Neoplasms In: Parakrama Chandrasoma, editor. Gastrointestinal Pathology 1st ed. Applition and Lange;1999,Chapter 5: 105-144.
166. John C. Layke, Peter P. Lopez. Gastric cancer: Diagnosis and treatment. Am Fam. Physician 2004; 69: 1133-40.
167. Akbayır N. Etiyoloji ve patogenezi, Mihmanlı M. (Ed) Mide kanseri ve cerrahitedavisi, İstanbul, Avrupa tıp kitapçılık. 2004, s: 61-63.
168. Fenoglio-Preiser C, Carneiro F, Correa P, Gulford P, Lambert R, Megraud F. Gastric Carcinoma. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System, World Health Organization Classification of Tumours, 2000; 3: 37–66.
169. Kapan M. Mide kanseri. Tanı ve cerrahi tedavi. Gastrointestinal sistem hastalıkları sempozyumu. 11 -12 Ocak 2001, İstanbul, s: 253-269
170. Charnley G, Tannenbaum SR. Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat. Cancer Res 1985; 45: 5608-16.
171. Ji B, Chow W, Yang G, et al. Dietary habits and stomach cancer in Shanghai, China. Int J Cancer 1998; 76: 659-64
172. Palli D. Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence. J Gastroenterol 2000; 35 (12): 84-90.
173. Mowat C, Carswell A, Wirz A, et al. Omeprazole and dietary nitrate independently affect levels of vitamin C and nitrite in gastric juice. Gastroenterology 1999; 116: 813-22.

174. Asghar RJ, Parsonnet J. Helicobacter pylori and risk for gastric adenocarcinoma. Semin Gastrointest Dis 2001; 12: 203-208
175. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. Journal of Clinical Epidemiology 2003, 56: 1-9
176. Lin HM, Teitell MA. Second malignancy after treatment of pediatric Hodgkin disease. J Pediatr Hematol Oncol. 2005; 27(1): 28-36.
177. Erdem L. Öncül lezyonlar, Mihmanlı M.(ed) Mide kanseri ve cerrahi tedavisi. İstanbul, Avrupa Tıp Kitapçılık. 2004, s: 45-47.
178. La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, et all. Family history and the risk of stomach and colorectal cancer. Cancer. 1992 ; 70(1): 50-5.
179. Robbins, KC. Basic Pathology. Çeviri: Çevikbaş U. Temel Patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2000: 487-489.
180. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors Journal of Clinical Epidemiology. 2003; 56: 1–9.
181. Maconi G, Manes G, Porro GB. Role of symptoms in diagnosis and outcome of gastric cancer. World J Gastroenterol. 2008 ; 14(8): 1149-55.
182. Chan AO, Lam SK, Chu KM, et all. Soluble E-cadherin is a valid prognostic marker in gastric carcinoma. Gut. 2001; 48(6): 808-11.
183. Meyer HJ, Wilke H. Treatment strategies in gastric cancer. Dtsch Arztebl Int. 2011; 108 (41): 698-706.
184. Menges M. Gastric cancer: Where is the place for the surgeon, the oncologist and the endoscopist today?. World J Gastrointest Oncol 2011; 3(1): 10-13
185. Geoffrey M. Cooper, Robert E. Hausman. The Cell: A Molecular Approach, Third edition. Hücre: moleküler yaklaşım. Çeviri editörleri:

- Sakızlı M, Atabey N. Üçüncü baskı. İzmir Tıp Kitapevi, 2006; Bölüm 15, 631-668.
186. Cotran SR, Kumar V, Robbins SL : Robbins Pathologic Basis of Disease, Chapter: 6, pp.239-306, W.B. Saunders Company, Philadelph, 1989.
187. Ataerğın A. Kanser tedavisinde Anjiyogenez inhibitörlerinin Yeri. Türkiye Klinikleri J .Med Sci 1999, 19:100-105.
188. Mangi MH, Newland AC. Angiogenesis and angiogenic mediators in haematological malignancies. Br J Haematol 2000; 111: 43-51.
189. Wyllie AH. Apoptosis and carcinogenesis. Eur J Cell Biol. 1997;73(3):189-97.
190. Lázaró ML. A New View of Carcinogenesis and an Alternative Approach to Cancer Therapy.. Molmed. 2010;16 :(3 - 4): 144 - 153 ,
191. Baylin SB. DNA methylation and gene silencing in cancer. Nat Clin Pract Oncol 2005;2 (I) 1:4-11.
192. Ducasse M, Brown MA. Epigenetic aberrations and cancer. Mol Cancer 2006 ;5:60.
193. Zhu J, Yao X. Use of DNA methylation for cancer detection and molecular classification. J Biochem Mol Biol 2007;40:135-41.
194. Esteller M. The necessity of a human epigenome project. Carcinogenesis. 2006;27:1121-5.
195. Li E, Bestor TH, Jaenisch R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. Cell.1992; 69: 915- 926.
196. Schmutte C, Fishel R. Genomic instability: first step to carcinogenesis. Anticancer Res 1999;19:4665-96.

197. Gronbaek K, Hother C, Jones PA. Epigenetic changes in cancer. *APMIS* 2007;115: 1039-59.
198. Warnecke PM, Bestor TH. Cytosine methylation and human cancer. *Curr Opin Oncol* 2000;12:68-73.
199. Park SY, Kim BH, Kim JH, Cho NY, Choi M, Yu EJ, et al. Methylation profiles of CpG island loci in major types of human cancers. *J Korean Med Sci* 2007;22:311-7.
200. Robertson KD, Jones PA. DNA methylation: past, present and future directions. *Carcinogenesis* 2000;21:461-7.
201. Esteller M, Corn PG, Baylin SB, et al., A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res*, 2001. 61(8): 3225-9.
202. Ballestar E, Esteller M. The impact of chromatin in human cancer: linking DNA methylation to gene silencing. *Carcinogenesis* 2002; 23: 1103-9
203. Esteller M, Herman JG. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. *J Pathol* 2002; 196:1-7.
204. Sayın DB. Metilasyon ve kanser. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2008, 28: 513-524.
205. Paluszczak J, Baer-Dubowska W. Epigenetic diagnostics of cancer the application of DNA methylation markers. *J Appl Genet* 2006; 47: 365-75.
206. Tokumaru Y, Harden SV, Sun DI, Yamashita K, Epstein JI, Sidransky D. Optimal use of a panel of methylation markers with GSTP1 hypermethylation in the diagnosis of prostate adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5518-22.

207. Herman JG, Baylin SB. Promoter-region hypermethylation and gene silencing in human cancer. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000;249:35-54.
208. Brena RM, Plass C, Costello JF. Mining methylation for early detection of common cancers. *PLoS Med* 2006;3:e479.
209. Booth J, Boyland E, Sims P . An enzyme from rat liver catalysing conjugations with glutathione. *Biochem J.* 1961; 79(3): 516–24.
210. Colot V, Rossignol JL. Eukaryotic DNA methylation as an evolutionary device. *BioEssays.*1999; 21: 402-411.
211. R Yang X, Pfeiffer RM, Goldstein AM. Influence of glutathione-S-transferase (GSTM1, GSTP1, GSTT1) and cytochrome p450 (CYP1A1, CYP2D6) polymorphisms on numbers of basal cell carcinomas (BCCs) in families with the naevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Med Genet.* 2006; 43(4): e16.
212. Kempkes M, Golka K, Reich S et all. Glutathione S-transferase M1 and T1 null genotype as potential risk factor for urothelial cancer of the bladder. *Arch Toxicol;* 1996; 71: 123-6.
213. Ali-Osman F, Akande O, Antoun G,et all. Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J Biol Chem.* 1997;272(15):10004-12.
214. Lee TL, Leung WK, Michael WY, et all. Detection of Gene Promoter Hypermethylation in the Tumor and Serum of Patients with Gastric Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002;8:1761-1766.

215. Hong SH, Kim HG, Chung WB, et al. DNA Hypermethylation of Tumor-Related Genes in Gastric Carcinoma. *J Korean Med Sci* . 2005; 20: 236-41.
216. Shin A, Lee J, Park S, et al. Gastric cancer epidemiology in Korea. *J Gastric Cancer* 2011;11(3):135-140.
217. Ferlay J, Autier P, Boniol M, et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol*. 2007;18(3):581-92.
218. Lochhead P, El-Omar EM. Gastric cancer. *Br Med Bull*. 2008;85:87-100.
219. Jeong O, Park YK. Clinicopathological features and surgical treatment of gastric cancer in South Korea: the results of 2009 nationwide survey on surgically treated gastric cancer patients. *J Gastric Cancer*. 2011;11(2):69-77.
220. Marugame T, Dongmei Q. Comparison of time trends in stomach cancer incidence (1973-1997) in East Asia, Europe and USA, from *Cancer Incidence in Five Continents Vol. IV-VIII*. *Jpn J Clin Oncol*. 2007 ;37(3):242-3.
221. Comparison of time trends in stomach cancer incidence (1973-1997) in East Asia, Europe and USA, from *Cancer Incidence in Five Continents Vol. IV-VIII*. Marugame T, Dongmei Q. *Jpn J Clin Oncol* 2007;37(3)242–243
222. Lin Y, Ueda J, Kikuchi S, et al. Comparative epidemiology of gastric cancer between Japan and China. *World J Gastroenterol*. 2011;17(39):4421-8
223. Tuncer M, Dinç İ, Sander E, et al. Gastrik Karsinoma Endoskopi Dergisi Sayı 2 Yıl 1992 Sayfa 21-3.

224. Polat G, Kouk M, Onuk MD, ve ark. Erzurum Yöresinde Mide Kanserinin Demografik Özellikleri. AÜTD 2000; 32: 63-65
225. Holash J , Wiegand SJ, Yancopoulos GD. New model of tumor angiogenesis : dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF. Oncogene 1999; 18: 5356-5362.
226. Lee SS, Ryu SW, Kim IH Early gastric cancer with signet ring cell histology remained unresected for 53 months. J Gastric Cancer. 2011 ;11(3):189-93.
227. Han KB, Jang YJ, Kim JH, Clinical significance of the pattern of lymph node metastasis depending on the location of gastric cancerJ Gastric Cancer. 2011;11(2):86-93.
228. Hamashima C, Shibuya D, Yamazaki H, et all. The Japanese guidelines for gastric cancer screening. Jpn J Clin Oncol. 2008 Apr;38(4):259-67.
229. Tada K, Oda I, Yokoi C, Taniguchi T, Pilot study on clinical effectiveness of autofluorescence imaging for early gastric cancer diagnosis by less experienced endoscopists. Diagn Ther Endosc. 2011;2011:419136.
230. Koc HO, Sarı YS, Bektaş H ve ark. Do we adequately diagnose early gastric cancer in Turkey. Turk J Gastroenterol 2011; 22 (3): 255-259
231. Lee WS, Cho JW, Kim YD , et all. Technical issues and new devices of ESD of early gastric cancer World J Gastroenterol. 2011; 17(31): 3585-3590.
232. Kim KJ, Park SJ, Moon W, et all. Analysis of factors related to lymph node metastasis in undifferentiated early gastric cancer Turk J Gastroenterol 2011; 22 (2): 139-144

233. Ihn MH, Kim YJ, Kim JJ, et al. A Case of Thyroid Metastasis Originating from Early Gastric Cancer. *J Korean Med Sci* 2009; 24: 1230
234. Hara F, Kiyoto S, Takabatake D, et al. Metastatic Breast Cancer to the Stomach Resembling Early Gastric Cancer. *Case Rep Oncol* 2010;3:142–147
235. Yamaguchi E, Uchida M, Makino Y, et al. Tonsillar metastasis of gastric cancer. *Clin J Gastroenterol* . 2010;3:289–295
236. Matsuda A, Kato S, Furuya M, et al. Multiple early gastric cancer with duodenal invasion. *World J Surg Oncol*. 2007;5:125.
237. Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S, et al. Cigarette smoking, alcohol consumption and subsequent gastric cancer risk by subsite and histologic type. *Int J Cancer*. 2002;101(6):560-
238. Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric Cancer* . 2007;10: 75–83.
239. Tsugane S, Sasazuki S, Kobayashi M, et al. Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. *British Journal of Cancer* 2004; 90:128 – 134
240. Göral V, Özdal B, Kaplan A ve ark. Diyarbakır ilinde Helikobakter pilori antikor prevalansı. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 2006; 5 (1): 47-50
241. Çınar K, Soykan İ, Özden A. The effect of Helicobacter pylori eradication in patients with functional dyspepsia: Assessment of different diagnostic tests. *Turk J Gastroenterol* 2004; 15 (3): 159-163

242. Testino G, Cornaggia M, Valentini M: Helicobacter pylori pre-neoplastic changes, gastric cancer. A point of view. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999; 11:357-9.
243. Kamangar F, Qiao Y-L, Blaser MJ, et al. Helicobacter pylori and oesophageal and gastric cancers in a prospective study in China. British Journal of Cancer 2007; 96, 172 – 176.
244. Xue FB, Xu YY, Wan Y, et al. Association of H. pylori infection with gastric carcinoma: a Meta analysis. World J Gastroenterol 2001;7(6):801-804.
245. Sepulveda AR, Graham DY: Role of Helicobacter pylori in gastric carcinogenesis. Gastroenterol Clin North Am 2002;31:517-35.
246. Ghoshal UC, Chaturvedi R, Correa P. The enigma of Helicobacter pylori infection and gastric cancer. Indian J Gastroenterol. 2010;29(3):95-100..
247. Mbulaiteye SM, Hisada M, El-Omar EM Helicobacter Pylori associated global gastric cancer burden. Front Biosci. 2009;14:1490-504.
248. Cheung TK, Xia HH, Wong BC. Helicobacter pylori eradication for gastric cancer prevention J Gastroenterol 2007; 42[Suppl XVII]:10–15
249. Kabir S. Effect of Helicobacter pylori eradication on incidence of gastric cancer in human and animal models: underlying biochemical and molecular events. Helicobacter. 2009;14(3):159-71.
250. Akpolat N. Helicobacter pylorinin midede oluşturduğu morfolojik değişiklikler. Uzmanlık tezi. Van: Van Üniversitesi; 1998.

251. Kim YS, Park HA, Kim BS, et al. Efficacy of screening for gastric cancer in a Korean adult population: a case-control study. *J Korean Med Sci.* 2000;15:510-515.
252. Nam SY, Choi IJ, Park KW, et al. Effect of repeated endoscopic screening on the incidence and treatment of gastric cancer in health screenees. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009;21:855-860.
253. Nakajima T, Enomoto S, Ushijima T. DNA methylation: a marker for carcinogen exposure and cancer risk. *Environ Health Prev Med.* 2008 ;13(1):8-15.
254. Ushijima T. Epigenetic field for cancerization. *J Biochem Mol Biol.* 2007;40(2):142-50.
255. Hayes J.D, Pulford D.J. The Glutathione S-Transferase Supergene Family: Regulation of GST and the Contribution of the Isoenzymes to Cancer hemoprotection and Drug Resistance.'*Crit Rev Biochem Mol Biol.* 1995; 30(6):445-600.
256. Ketterer B, Harris J.M, Talaska G, et all. The Human Glutathione S-Transferase Supergene Family, Its Polymorphism, and Its Effects on Susceptibility to Lung Cancer. *Env Health Persp.*1992; Vol.98, 87-94.
257. Whalen R, Boyer T.D. . Human Glutathione S-Transferases. *Sem Liver Dis,*1998; Vol.18, No.4.
258. Leung WK, To KF, Chu ES, Potential diagnostic and prognostic values of detecting promoter hypermethylation in the serum of patients with gastric cancer. *Br J Cancer.* 2005;92(12):2190-4.
259. Chang MS, Uozaki H, Chong JM, et all. CpG island methylation status in gastric carcinoma with and without infection of Epstein-Barr virus. *Clin Cancer Res.* 2006;12(10):2995-3002.

260. Poplawski T, Tomaszewska K, Galicki M, et al. Promoter methylation of cancer-related genes in gastric carcinoma. *Exp Oncol.* 2008;30(2):112-6.
261. Maekita T, Nakazawa K, Mihara M, et al. High levels of aberrant DNA methylation in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosae and its possible association with gastric cancer risk. *Clin Cancer Res.* 2006; 1;12:989-95.
262. Chan AO, Peng JZ, Lam SK, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* infection reverses E-cadherin promoter hypermethylation. *Gut.* 2006;55(4):463-8.
263. Kang JM, Kim N, Cho SI, et al. Effects of Genetic Polymorphisms of Glutathione S-transferase P1 on *Helicobacter pylori*-associated Gastric Cancer. *Gut Liver.* 2008;2(1):23-9
264. Kang GH, Lee S, Kim JS, Jung HY. Profile of aberrant CpG island methylation along the multistep pathway of gastric carcinogenesis. *Lab Invest.* 2003;83(5):635-41.
265. Kordi-Tamandani DM, Hashemi M, Birjandian E, et al. Lack of association of GSTT1 and GSTP1 genes methylation and their expression profiles with risk of NAFLD in a sample of Iranian patients. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2011;35(5):387-92.
266. Mikeska T, Candiloro IL, Dobrovic A. The implications of heterogeneous DNA methylation for the accurate quantification of methylation. *Epigenomics.* 2010;2(4):561-73.

