

T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Patoloji Anabilim Dalı

**MİDE KARSİNOGENEZİNDE MASPİNİN YERİ VE BUNUN
NEOANJİOGENEZ İLE APOPTOZİS ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Gonca PİŞKİN KESİCİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Semin Ayhan

Manisa, 2009

2004 yılında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında asistanlık eğitimime başladığımda, gerek mesleki gerekse hayat anlamında daha yolun başındayken, sizleri tanımam benim için gerçekten büyük bir şanstı...

Patoloji eğitimim ve tez hazırlığım boyunca anlayış ve desteğini hep yanımda hissettiğim, hayat enerjisi ve pozitif bakış açısıyla her zaman kendime örnek alacağım tez danışmanım Doç.Dr. Semin Ayhan'a, bilgi ve deneyimini tüm içtenliğiyle benimle paylaşan, her türlü sıkıntıda beni rahatlatan, asistanları olmaktan gurur duyduğum değerli hocalarım Prof. Dr. Ali Rıza Kandiloğlu ve Prof. Dr. Aydın İşisağ'a, eğitimime katkıları yanı sıra ihtiyacım olduğu her durumda yardım ve desteğini esirgemeyen Yrd. Doç.Dr. Peyker Temiz'e, tezimin istatistiksel analiz kısmının hazırlanması ve yorumlanmasına büyük katkıları olan, çalışkanlığı ve azmini her zaman örnek alacağım Yrd. Doç Dr. Nalan Neşe'ye, kısa bir süre çalışma olanağı bulduğum Doç. Dr. M. Akif Demir'e, ilişkilerimizde arkadaşlık ve dostluğun ön planda olduğu ve uyum içinde çalıştığımız asistan arkadaşlarıma, başta tez döneminde olmak üzere tüm eğitimim boyunca keyifle çalıştığımız teknisyen, sekreter ve arşiv görevlisi arkadaşlarıma,

Ve varlıkları ile bana güç veren eşim, oğlum ve aileme,

Sonsuz teşekkür ve sevgilerimle...

Dr. Gonca Pişkin Kesici

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ.....	1
II. GENEL BİLGİLER	2
III. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
IV. BULGULAR	33
V. TARTIŞMA	58
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
VII. ÖZET.....	69
VIII. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY).....	71
IX. KAYNAKÇA.....	73

KISALTMALAR

HP	: Helikobakter pilori
İEN	: İntraepiteliyal neoplazi
DİEN	: Düşük dereceli intraepiteliyal neoplazi
YİEN	: Yüksek dereceli intraepiteliyal neoplazi
EMK	: Erken mide karsinomu
İMK	: İleri evre mide karsinomu
Maspın	: Mammarian serin proteaz inhibitörü
COX-2	: Siklooksigenaz 2
PG	: Prostaglandin
VEGF	: Vasküler endoteliyal büyüme faktörü
H&E	: Hematoksilen-eosin
TBS	: Tris tampon solüsyonu
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
OWA	: "One way" ANOVA
PKT	: Pearson korelasyon testi

GİRİŞ

20. yüzyılın ikinci yarısında mide kansinonlarının hem insidans hem de mortalitesinde tüm dünyada bir düşüş izlenmiştir. Buna rağmen mide kanserleri, kanserden ölüm sebepleri içerisinde halen dünyada akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır (1). Helikobakter pilorinin de bir risk faktörü olarak kabul edilmesiyle birlikte mide kansinonları, epidemiyologların daha çok ilgisini çekmeye başlamıştır. Bu alanda yapılan çalışmalar, mide kansinonlarının etyoloji ve patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamış ve hastalıktan aktif olarak korunma olasılığını gündeme getirmiştir. Ayrıca mide kanserlerinin biyolojik davranışlarını ortaya koyacak çeşitli belirleyiciler üzerinde de çalışmalar yapılmıştır.

Bu belirleyiciler içerisinde yer alan Maspin, serin proteaz inhibitörü ailesinin bir üyesidir. Bazı deneysel çalışmalar maspinin potansiyel bir tümör supresör aktivitesinin olduğunu göstermiştir (2,3). Maspin bu aktivitesini tümör gelişimini, invazyonunu ve anjiogenezi inhibe ederek ve apoptozisi düzenleyerek gerçekleştirir (4).

Çalışmamızda Maspin'in mide karsinogenez basamaklarındaki yerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Maspin'in aktivitesi göz önüne alındığında neoanjiogenezdeki etkisini araştırmak için COX-2 ve VEGF, apoptozis üzerindeki etkisini araştırmak için ise Bcl-2 ve Bax immun belirleyicileri de çalışmaya eklendi.

GENEL BİLGİLER

Gastrointestinal sistemin diğer bölümlerinde olduğu gibi, mide tümörlerinin de çoğu epiteliyal kökenlidir. Bu epiteliyal tümörlerin ise çoğu maligndir. Benign epiteliyal proliferasyonları adenomlar ve polipler oluşturur. Non-neoplastik polipler primer olarak normal mide foveolar müköz hücrelerinden, adenomlar ise sıklıkla intestinal tip hücrelerden oluşur. İntestinal epitel fenotipi karsinomlarda da siktir. Fakat adenomların tersine karsinomlar, mide müköz epitel hücrelerini, endokrin hücreleri ve daha az sıklıkla skuamöz hücreleri de içerebilir.

Benign ya da malign olsun, mide tümörlerinin içinde en sık görüleni karsinomlardır. Mide karsinomlarının ise yaklaşık %90 kadarını adenokarsinomlar oluşturur (1).

EPİDEMIYOLOJİ

Mide kanseri dünyada en sık görülen kanserlerden biridir ancak insidansında belirgin coğrafik dağılım farklılıkları dikkati çeker. En yüksek oranda görüldüğü bölgeler; Doğu Asya, Güney Amerika'nın And dağları bölgesi ve Doğu Avrupa'dır. Kuzey Amerika, Batı Avrupa, Güneydoğu Asya ve Afrika'daki bir çok ülkede ise oranlar düşüktür (5,6). Yüksek riskli bölgelerden düşük riskli bölgelere göç eden kişilerde mide karsinomu insidansının düştüğü görülür. Ancak bu düşüş göç edenlerin ikinci kuşaklarında belirgindir. Histolojik tip açısından değerlendirildiğinde ise, diffüz tip adenokarsinom insidansı çoğu toplumda benzer düzeydeyken, intestinal tip adenokarsinom yüksek riskli bölgelerde daha sık görülür (1,6).

Mide kanserinin insidansı yaş ile birlikte giderek artar. Öyle ki 30 yaş altı kişilerde mide karsinomu oldukça nadirdir. İntestinal tip mide karsinomları

daha çok yaşlılarda , diffüz tip karsinomlar ise daha çok gençlerde görülür. İntestinal tip mide karsinomlarına erkeklerde daha sık rastlanırken, diffüz tipte cinsiyetler arası farklılık izlenmez (1). Genç hastalardaki tümörler sıklıkla büyük, diffüz infiltratif ve kötü prognozludur. Erken mide karsinomu olan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları, mide karsinomlarındaki genel özelliklerle benzerdir (7).

ETYOLOJİK FAKTÖRLER

Beslenme:

Mide kanseri etyolojisinde çevresel faktörler büyük rol oynar, bunlar içerisinde en önemlisi ise beslenme alışkanlığıdır. Fakat bu daha çok intestinal tip adenokarsinom için geçerlidir. Nişastalı, salamura, tütülenmiş ve tuzlu besinler mide kanseri açısından risk oluştururken, taze meyve, sebze, beta-karoten, C ve E vitaminlerini içeren yiyeceklerin alınması ise antioksidan etkileri nedeniyle önerilmektedir (1,6).

Hayvan çalışmalarında birçok N-nitroso bileşiğinin karsinojenik etkisi olduğu bildirilmiştir. İnsanlarda da bu bileşikler, mide lümeninde, diyetle alınan nitrit ve nitratlardan oluşabilir. Atrofik gastriti olan kişilerde hipoasidite ortaya çıkacağı için, nitratları nitritlere dönüştüren ve in vivo N-nitrozasyonu katalizleyen bakterilerin üremesi tetiklenir. Diyetle alınan C ve E vitaminleriyle nitrozamidlerin oluşumu engellenebilir (1).

Alkol ve tütün kullanımının etkisiyle ilgili çeşitli toplumlar üzerinde çalışmalar yapılmıştır, ancak elde edilen sonuçlar çelişkilidir (1,6).

Safra reflüsü:

Mide karsinomu gelişme riski, özellikle safra reflüsünde artışın izlendiği Billroth II operasyonu geçirmiş hastalarda, ilk gastrektominin ardından 5-10 yıl geçtikten sonra artar. Gastroenterostomi stomasındaki sfinkterik fonksiyon kaybı ve intestinal içeriğin mideye reflüsü, midedeki mukozal anormalliklerin ve malign değişikliklerin nedeni olarak kabul edilir. Bu ilişkinin en güçlü olduğu durum, mide ülseri sebebiyle yapılan gastrektomilerdir. Böylesi

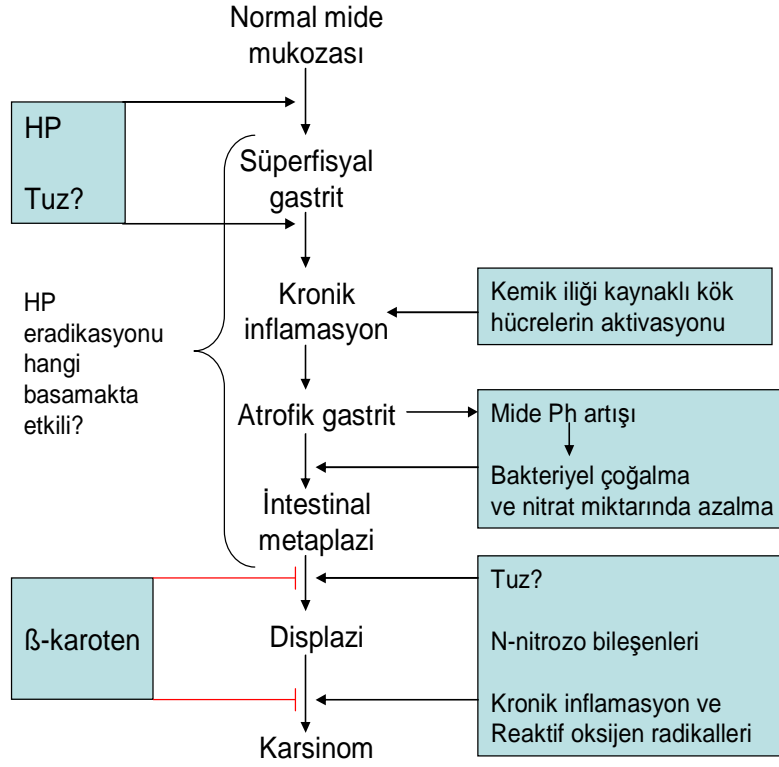
durumlarda tümör midede herhangi bir yerde gelişebilmekle birlikte, sıklıkla anastomoz hattında ortaya çıkar. Bu tümörler histolojik tip açısından bir ayrım göstermez, intestinal ve diffüz tip karsinomlar eşit sıklıkta oluşur.

Anastomozlu midede gastrit, intestinal metaplazi, en sık hiperplastik tip olmak üzere polipler ve displazi de görülebilir. Bunlar içerisinde karsinom gelişimi açısından en önemli lezyon displazidir, fakat genellikle ılımlı dercededir ve gerileyebilir. Şiddetli displazi ise karsinogenezde önemli bir rol oynar (1,6,7).

Helikobakter pilori:

1983'te keşfedilmesinin ardından Helikobakter pilori (HP), önceleri gastrit ve peptik ülser hastalığı, daha sonra mide karsinomları ve lenfomaları ile ilişkilendirilmiştir. HP, kronik gastritli hastaların %90'ında bulunmasına rağmen enfekte kişilerin büyük bir kısmı asemptomatiktir. Buna karşın olguların %20-30'unda enfeksiyon, peptik ülsera neden olur ve daha az bir kısmında da mide karsinomları ve lenfomaları gelişebilir. Serolojik çalışmalar HP ile enfekte kişilerde mide kanseri riskinin üç kat arttığını göstermiştir (8).

HP mide karsinogenezinde önemli basamaklarda rol alan bir patojendir. HP'nin sebep olduğu enfeksiyon; kronik gastrit, hipoasiditeye yol açan multifokal atrofi, intestinal metaplazi, displazi ve karsinomu içeren bir süreç şeklinde ortaya çıkan intestinal tipte mide adenokarsinomu ile ilişkilidir (Şekil 1).



Şekil 1. Mide karsinogenezinde HP'nin rolü

HP sporsuz, yaklaşık $3.5 \times 0.5 \mu\text{m}$ ölçülerinde, virgül şeklinde gram negatif bir çomaktır. HP'nin özellikle yüzey epitel hücreleri ve foveolar müköz hücreler olmak üzere, mide epiteli ve asidik ortama karşı yüksek affinitesi vardır. HP duodenumda da mide metaplazisi olan alanlarda bulunabilir, intestinal metaplazili alanlarda ve intestinal epitelde ise izlenmez. HP'nin, neoplazinin köken aldığı intestinal metaplazi alanlarında bulunmaması, karsinojenik etkisini çözümler bakteriyel ürünler ya da enfeksiyonun tetiklediği inflamatuvar cevap yoluyla gerçekleştirdiğini gösterir. Mikroorganizma ve amonyak başta olmak üzere organizma ürünleri, belirgin lenfosit ve nötrofil infiltrasyonu ve lenfoid follikül oluşumu ile karakterli kronik gastrite yol açar. Mukozal hasar, epitelde rejeneratif değişiklikler, intestinal metaplazi ve mukozal atrofi ile sonuçlanır. Gastrit ve atrofi, mide asit sekresyonunda değişikliğe yol açarak mide pH'ını yükseltir ve anaerobik bakterilerin kolonize olmasına izin verecek şekilde mide florasını değiştirir. HP eradikasyonu,

atrofik gastritin şiddetini ve epitelin proliferatif aktivitesini azaltır ve intestinal metaplaziyi inhibe eder (6,8).

HP enfeksiyonu olan kişilerin çoğunda mide kanseri gelişmemesi, çevresel faktörler, kişiye bağlı faktörler ve bakteriyel virulans etkenlerini içeren bir dizi kompleks mekanizmanın sonucudur. Özellikle vacA, cagA ve iceA genleri gibi HP virülansı ile ilişkili genler, enfeksiyonun klinik sonuçlarıyla yakından ilişkilidir (1,9).

Diğer risk faktörleri:

Mide kanser etyolojisindeki rolü çalışmalarla kanıtlanmış risk faktörlerinden biri de A kan grubu fenotipidir. Bu etki HP'nin Lewis kan grubu antijenine bağlanmasıyla oluşur. Böylece kronik enfeksiyon ve takip eden kanser riskinin oluşumunda konağa bağlı kolaylaştırıcı bir faktör olarak görev yapar (6).

Mide kanseri gelişim riski, hastaların birinci derece akrabalarında yaklaşık iki-üç kat artmıştır. HP enfeksiyonunun ailesel olarak da görülebilmesi bu riski açıklayıcı bir faktör olabilir.

Pernisyöz anemisi olan kişilerde mide karsinomu insidansının daha yüksek olduğu bilinmektedir. Düşük sosyo-ekonomik durum da yüksek riske yol açan faktörlerden biridir. Diğer olası risk faktörleri asbestoz ve iyonizan radyasyondur.

PREKÜRSÖR LEZYONLAR

Kronik atrofik gastrit ve intestinal metaplazi:

İntestinal tip mide kanserleri için, özellikle HP ilişkili kronik atrofik gastrit en önemli prekürsör lezyondur. Diffüz tip mide kanserlerinde ise bu tür bir ilişki gösterilmemiştir. Araştırmalar, mide kanseri riskinin kronik atrofik gastrit olgularındaki intestinal metaplazinin yaygınlığı ile de orantılı olduğunu göstermiştir. İntestinal metaplazide, mide mukozası intestinal tip mukozaya transforme olur. Bu değişim, normal mide bezlerinin proliferatif zonu olan boyun kısmında başlar ve genelde antrum-korpus bileşkesinde ortaya çıkar.

Hücre tipi ve fonksiyonel özelliklerine dayanarak, intestinal metaplazi komplet ve inkomplet tiplere ayrılır. Komplet metaplazide mide mukozası, villusları bulunmayan ince barsak mukozası görüntüsünü alır. Bezler, tipik ince barsak mukozasının absorptif, goblet, paneth ve endokrin hücreleri ile döşelidir. İnkomples metaplazide ise goblet hücreleri arasındaki kolumnar hücreler, absorptif hücreler yerine foveolar epitelin muköz hücrelerine benzer karakterdedir. Goblet hücrelerindeki mukus, sialomüsin, sulfomüsin ya da ikisini beraber içerir. İnkomples metaplazide kolumnar hücrelerdeki mukus, nötral mukoprotein, sialomüsin ya da sulfomüsin olabilir. İnkomples tip, A ve B alt gruplarına ayrılır. A'da sülfatlanmamış müsin, B'de ise normalde kolon epitelindeki goblet hücrelerinde bulunan sulfomüsin bulunur. Bu nedenle kolonik tip metaplazi olarak da adlandırılır. Bu tipler daha sonra tip I, II, III olarak yeniden isimlendirilmiştir. Bunlar içerisinde tip II ve tip III intestinal metaplazi, intestinal adenokarsinom için prekürsör lezyon olarak kabul edilir (6,7).

Kronik atrofik gastrit ve intestinal metaplazinin mide kanseri gelişimindeki rolleri göz önünde bulundurularak, özellikle rutin bakı sırasında bu lezyonların ayırt edilmesi ve klinisyenin bilgilendirilmesi önem taşır.

İntraepiteliyal neoplazi (displazi):

Adenokarsinom oluşumu için tek kesin prekürsör lezyon, epiteldeki displastik değişikliklerdir. Diğer prekanseröz durumların malign değişimlerinde de epiteliyal displazi önemli bir rol oynar. Displazi, midede hem normal müköz hücrelerde, hem de intestinal metaplazi alanlarında ortaya çıkabilir. Çok basamaklı mide onkogenezi teorisinde intraepiteliyal neoplazi, atrofik metaplastik lezyonlar ile invaziv kanser arasında yer alır.

Displazinin temel histolojik özelliği, çok sayıda immatür hücrenin oluşumu ile sonuçlanan hücre proliferasyonudur. Böylelikle displazi, bir uçta reperatif rejenerasyonla örtüşürken, diğer uçta karsinomla ilişkilidir. Bu da hem tanı konması aşamasında hem de terminolojide bazı zorluklarla karşılaşılmasına sebep olur. Geleneksel Batı ve Japon sınıflama sistemlerinin kullanılması, gastrointestinal epiteliyal neoplazilerin tanıları

sırasında patoloğlar arasında büyük farklar oluşmasına sebep olmuştur. Bu sebeple non-neoplastik değişiklikler ile erken invaziv kanser arasında yer alan lezyonların morfolojik spektrumunun ve terminolojilerinin belirlenmesi ve patoloğlar arası standardın sağlanması için, 1998 yılında Viyana’da Dünya Gastroenteroloji Kongresi’nde görüş birliğine varılarak yeni bir sınıflama sistemi kabul edilmiştir (10,11) (Tablo 1).

Tablo 1. Gastrointestinal epiteliyal neoplazilerin Viyana sınıflaması

1. neoplazi/displazi yönünden negatif
2. neoplazi/displazi yönünden belirsiz
3. non-invaziv düşük dereceli neoplazi (düşük dereceli adenom/displazi)
4. non-invaziv yüksek dereceli neoplazi
4.1 yüksek dereceli adenom/displazi
4.2 non-invaziv karsinom (karsinoma in situ)
4.3 kuşkulu invaziv karsinom
5. invaziv neoplazi
5.1 intramukozal karsinom*
5.2 submukozal karsinom veya fazlası

* “İntramukozal” kelimesi, lamina propria veya muskularis mukozaya invazyonu işaret eder.

Belirsiz neoplazi/displazi:

Bazen bir lezyonun neoplastik ya da non-neoplastik oluşuyla ilgili şüpheye düşülebilir. Bu durum özellikle küçük biyopsilerde karşımıza çıkar. Bu tür durumlarda derin kesit alınması ya da hücre proliferasyonuna neden olan faktörler ortadan kaldırıldıktan sonra yeniden biyopsi yapılması önerilir. Non-steroid antiinflamatuvar ilaçların oluşturduğu hasarla tetiklenen rejenerasyon veya mide asit sekresyonunun artışı ile oluşan yüzeysel erozyon ya da ülserasyon, dışlanması gereken lezyonlardır. İntraepiteliyal neoplazinin kesin tanısı için gerekli olan özelliklerin hiçbirini karşılamayan lezyonlar, belirsiz neoplazi/displazi kategorisinde yer alır. Normal mide mukozasında foveolar

hiperproliferasyon, displazi yönünden belirsiz olabilir. Mukustan fakir bir epitele sahip, düzensiz, kıvrımlı tubuler yapılar, yüksek nükleer/sitoplazmik oran ve polarite kaybı, böyle bir lezyonda beklenen özelliklerdir. Boyun bölgesindeki proliferatif zonda bulunan hücreler, iri, oval ya da yuvarlak, hiperkromatik nükleusludur ve belirgin mitoz izlenebilir. Bu hücreleri “displazik” olarak değerlendirmemek gerekir. İntestinal metaplazide ise intraepitelial neoplazi yönünden belirsiz alanlarda epitel, hiperprolifereatif metaplastik epitel şeklindedir. Bezler sıkışık bir şekilde yerleşmiş, iri, hiperkromatik, yuvarlak ya da oval, nükleolusları belirsiz, bazalde dizilmiş nükleuslara sahiptir.

İnteraepitelial neoplazi (İEN):

Mide karsinogenezinin sondan bir önceki basamağı olarak kabul edilen non-invaziv epitelial bir süreçtir. İEN, sıklıkla antrum ve *incisura angulariste* ve tipik olarak intestinal metaplazi (genellikle inkomplet tip) zemininde oluşur. İEN histolojik olarak normal mukozada, ülser veya erozyone alanlarda, atrofik gastrit zemininde, polip, plak ve skarlarda da gelişebilir (5).

İEN, ya yassı bir oluşum, ya da adenom olarak isimlendirilen, yüzeyden kabarık iyi sınırlı bir lezyon şeklinde olabilir. Yassı lezyonlar (*Flat* patern) klasik endoskopik uygulamalarda seçilemeyebilir ancak kromo-endoskopide (renkli endoskopide) düzensiz yüzeyli bir alan şeklinde görülebilir. *Flat* displazi çoğunlukla multifokaldir ve şiddetli formları bile gerileyebilir, kesin tanı ise sadece mikroskopik olarak konabilir (5).

Düşük dereceli intraepitelial neoplazi (DİEN):

DİEN’de bezler sadece ılımlı yapısal düzensizlik gösterir. Dallanan ya da tomurcuklanan tubuler yapılar, papiller katlantılar, kriplerde testere dişi şeklinde uzama ve kistik değişiklikler izlenebilen özelliklerdir. Bezler mukustan fakir, iri, kolumnar hücrelerle döşelidir. Bu hücreler, yuvarlak ya da oval şekilli, veziküle nükleuslara sahiptir. Bu nükleuslar, displastik tübüllerin süperfisiyal kısmındaki proliferasyon zonunda psödostratifikasyon oluşturur.

Yüksek dereceli intraepitelial neoplazi (YİEN):

YİEN ise, bezlerde kalabalıklaşma ve belirgin hücresel atipi gibi daha ileri yapısal değişikliklerle karakterlidir. Dallanan, kıvrımlanan düzensiz şekilli tübüller izlenebilir ancak invazyon yoktur. Mukus üretimi ya çok azdır ya da yoktur. Pleomorfik, hiperkromatik, psödostratifiye nükleuslar sıklıkla puro şeklindedir. Nükleuslarda parsiyel ya da total polarite kaybı ve mitoz karakteristiktir.

İntraepitelial neoplaziden karsinoma geçiş:

Karsinom tanısı, tümör lamina propriaya ya da muskularis mukozaya infiltre olduğunda konur. Bazı mide biyopsileri, tek tek hücreler, bez benzeri yapılar ya da papiller projeksiyonlar gibi kesin invazyonu gösteren alanlar içerir. "İnvazyon açısından kuşkulu" terimi, invaziv bir malignite açısından histolojik kriterler kesin değilse kullanılır.

İEN'lerin %80'den fazlası zamanla invazyon gösterebilir. Karsinomların çoğunun, YİEN tanısından sonraki ortalama ilk bir yıl içinde teşhis edilmesi, tanı sırasında zaten varolabileceklerini akla getirir. Bu veri İEN'nin prekanseröz bir lezyon olmasının yanısıra parakanseröz bir lezyon olduğunu da düşündürür. Özellikle YİEN'lerde eşzamanlı bulunabilecek bir karsinomun araştırılması önemlidir. Bu yüzden çok sayıda örnekleme yapılmalıdır. Adenokarsinom ile yakın ilişkisinden dolayı YİEN tanısı alan hastalarda, cerrahi rezeksiyon önerilir.

Peptik ülser hastalığı:

Helikobakter pilori enfeksiyonu, mide ülseri, duodenal ülser ve mide kanserinin her üçü için de ortak risk faktörüdür. Bu yönden düşünüldüğünde peptik ülser ile mide kanser riskinin artışı arasındaki ilişki şaşırtıcı değildir. Buna karşın duodenal ülser ile mide kanseri riski ters orantılıdır (13). Enfeksiyonun erken evrelerinde atrofik gastrit oluşabilir ve kanser gelişim riski yüksektir. Fakat atrofi ile ilişkili olarak asit sekresyonunun azalması, duodenal ülser oluşum riskini azaltır. Yine de duodenal ülser ile mide kanserini gelişim riski arasındaki bağlantı tartışmalıdır (14). Kronik ülsere

mide mukozası karsinojenik uyarılara daha hassastır. Ayrıca endoskopik olarak saptanan ülserler, gerçekte maligniteye bağlı olarak ortaya çıkmış olabilir. Bunun sonucu olarak malign ülser sıklıkla “benign ülser” olarak yanlış tanı alabilir ve ayırıcı tanı için ülser alanından çok sayıda örnekleme yapılmalıdır.

Mide polipleri:

Mide polipleri öncelikle neoplastik ve non-neoplastik polipler olmak üzere ikiye ayrılır. Neoplastik polipler mide poliplerinin küçük bir kısmını oluşturur. Bunlar içerisinde ise adenomlar, mide karsinomları için prekürsör olmaları açısından önemlidir. Batı tıp dünyasında adenom terimi yüzeyden kabarık, iyi sınırlı, çevre dokudan farklı görünümde olan lezyonlar için kullanılır. Japonya’da ise adenom terimi tüm makroskopik tipleri içerir (*flat, eleve, deprese*). Adenomlar yavaş büyüyen soliter lezyonlardır. Çoğunlukla antrum lokalizasyonlu olup, tüm mide poliplerin yaklaşık %10’unu oluştururlar (12). Adenomlar morfolojik olarak tubuler, villöz ya da tubulovillöz adenom olarak isimlendirilir. Endoskopik olarak, villöz formda olmadıkça, diğer poliplerden ayırt edilemez. Malign transformasyon sıklığı, adenomun boyutuna ve epiteldeki displazinin derecesine bağlıdır. 2 cm’den küçük lezyonların yaklaşık %2’sinde, 2 cm’den büyük lezyonların ise %40-50’sinde malign transformasyon görülür. Adenom ile komşu epitel arasında keskin bir geçiş vardır. Adenom lehine bulgular; iyi sınırlı, makroskopik olarak ayırt edilebilen bir lezyon olması, stromada minimal inflamasyon bulunması ve göreceli olarak uniform hücrelerden oluşmasıdır. Adenomlar lokalize neoplazmlar olduğu için, gerilemedikleri için ve tedavileri eksizyon olduğu için tanı konması önemlidir (5).

Mide poliplerinin büyük kısmı non-neoplastiktir ve hiperplastik tiptedir. Hiperplastik polipler sesil ya da saplı lezyonlardır ve genelde 2cm’den küçüktürler. Genellikle antrumda ve HP gastriti zemininde oluşurlar. Hiperplastik polip olgularının çok küçük bir kısmında, intestinal metaplazi ve displazi alanlarından karsinom gelişebilir. Hamartomatöz polip ve heterotopik pankreatik dokuda ise karsinom nadiren gelişir.

MİDE KARSİNOMU

Mide karsinomlarının etyolojisiyle ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. Yüksek risk bölgelerindeki karsinojenik etkileşim, olasılıkla yaşamın erken dönemlerinde olduğundan, karsinomun uzun bir latent dönemin ardından ortaya çıktığı varsayılır. Çoğu durumda displazi, karsinogenez öncesi ara basamak olarak karşımıza çıkar. Erken mide karsinomunun histolojik incelemesi, çevre non-neoplastik mide mukozasının da değerlendirilmesine olanak tanır. Bu tür çalışmalar, intestinal adenokarsinomların intestinal metaplazi ile ilişkili olduğunu, diğer histolojik tiplerin ise mide mukozasındaki foveolar müköz hücrelerden ortaya çıktığını göstermiştir. Ayrıca karsinom, metaplazi ve displazinin, normalde epitel rejenerasyonunun olduğu foveolar boyun bölgesindeki prekürsör hücrelerden başladığının gösterilmesi, bu hücrelerin mide kanseri patogenezinde önemli bir rolü olduğunu düşündürmüştür (5).

Mide karsinomları sıklıkla tanı anında ileri evrede olduğundan, hızlı büyüyen tümörler olarak düşünülebilir. Gerçekte mide kanserinde hücre proliferasyonu, normal mide mukozasındakinden daha yavaştır, yani tümörde hücre siklusunun süresi 3 kat daha uzundur. Diğer yandan karsinomda hücrenin ortalama yaşam süresi, normal mukozadaki 8-20 günden, 1 güne düşmüştür. Bu iki fenomenin kombinasyonu, mide karsinomlarının yavaş büyüyen tümörler olduğu sonucuna varılır. Tümörün klinik olarak erken karsinom tanısı alması 1-4 yılı bulur. Erken karsinomlar da 2-3 yıllık yarılanma ömürleri ile yavaş büyürlerken, ileri evre mide karsinomları 2-10 ay gibi bir yarılanma ömrü ile daha hızlı büyürler. Metastatik tümörlerin ise yarılanma ömrü 0.6-2 aydır (7).

Mide karsinomları çeşitli büyüme paternlerine sahiptir. Bazıları büyük kitleler oluştururken, bazıları tek tek hücreler şeklinde yayılır. İnvazyon paternindeki bu farklılıklar, erken dönemde başlar ve tümörün seyri boyunca aynı kalır. Bu da büyüme paternlerinin, kanser hücrelerinin biyolojik karakteristiği olduğunu gösterir.

20. yüzyılın ikinci yarısında, kardial yerleşimli adenokarsinomların sıklığının artmasıyla birlikte, mide karsinomlarının yerleşimi ve sıklığı ile ilgili önemli değişiklikler olmuştur. Fakat mide kardiasının anatomik ya da histolojik olarak tanımlanmasında, ortak bir görüş veya anatomik bir sınır olmadığından bazı güçlükler ortaya çıkmış ve bu konuda farklı sınıflandırma şemaları önerilmiştir (5,6).

Erken mide karsinomu:

Erken mide karsinomu (EMK) karsinomatöz infiltrasyonun, lenf nodu metastazı olup olmamasına bakılmaksızın, mukoza ve submukozayla sınırlı olduğu primer mide karsinomunu tanımlar. 6-88 ay gibi bir sürede EMK'larının %63'ü ileri evre karsinoma progresyon gösterir. EMK'larının çoğu, İEN'de olduğu gibi 50 yaş üstü erkeklerde görülür. Sıklıkla asemptomatiktir fakat bazıları peptik ülser hastalığını taklit eden semptomlar gösterebilir. EMK'ları 2-5 cm arası küçük lezyonlardır. Küçük kurvaturda angulus çevresinde yerleşim gösterirler. %3-13 hastada multipl lezyonlar görülebilir ve kötü prognozu işaret eder (5).

EMK'ları endoskopik makroskopik görünümüne göre üç tipe ayrılır: protrude (Tip 1), süperfisial (Tip 2), excavated (Tip 3). Tip 2 ise kendi içinde eleve (Tip 2a), flat (Tip 2b) ve deprese (Tip 2c) olmak üzere üç alt gruba ayrılır. Olguların çoğunu süperfisial (Tip 2) EMK'ları oluştururken, Tip 2c en sık görülen alt gruptur. Lezyonun normal mukozanın iki katı kalınlıkta olduğu Tip 2a ve benign ülseri taklit eden Tip 2c'nin endoskopik olarak tanınması zordur ve çok sayıda biyopsiye gereksinim duyulur. Lezyonun kolayca kanaması ve çevre mukoza ile düzensiz geçişi tanısız ipuçlarıdır (5,7). Submukozaya derin ve multifokal penetrasyon ve lenfatik invazyon riski Tip 2c'de daha yüksektir (6). Tip 3 kanser, ülser kenarları boyunca ince bir karsinomatöz doku ile çevrili derin ülser alan ile karakterlidir. Bu lezyonlar benign ülseri taklit edebilir. Saf Tip 3 lezyonlar %1'den az oranla oldukça nadirdir (7).

EMK'larının büyük çoğunluğu iyi diferansiyel adenokarsinomlardır. Tubuler ve papiller varyantları ise displaziden ayırt etmek zordur. Taşlı yüzük

hücreli karsinom ve az diferansiye karsinomlar genellikle deprese ya da ülseredir (Tip 2c ve 3). Bu lezyonların mide ksantomlarından ya da az diferansiye metastatik neoplazmlardan ayırt edilmesi ve gerekirse immunohistokimya kullanılması önerilmektedir.

EMK'larının prognozu, %90 üzeri 5 yıllık sağ kalım oranı ile mükemmeldir. Boyut ve invazyon derinliği önemli prognostik faktörlerdir. Büyük lezyonlarda submukozal infiltrasyon daha fazla olmasına rağmen, çok küçük tümörlerde bile invazyon riski göz ardı edilmemelidir (5). "Erken" kelimesi, total cerrahi rezeksiyonun mümkün olduğunu gösterir ancak bir zaman aralığını işaret etmez. EMK'unda olguların %9'unda lenf nodu metastazı bulunmuştur. Yeterli bölgesel lenfadenektomi ile 5 yıllık yaşam şansı %95'lere kadar yükselir (7).

İleri evre mide karsinomu:

İleri evre mide karsinomu (İMK), mide duvar invazyonu submukozayı aşmış tümörler için kullanılır. Hastaların büyük çoğunluğunu 50 yaş ve üzeri erkekler oluşturur. Erkek kadın oranı 2/1'dir. Klinik olarak peptik ülser semptomlarından anemi ve kilo kaybına kadar değişen semptomlar verebilir. Hematemez ve mide çıkış obstrüksiyonu belirtilerine de rastlanabilir. Tipik olarak daha genç hastalarda karın içi yayılım görülebilir. Bu, kadın hastalarda klasik metastatik over lezyonları (Krukenberg tümörü) şeklinde olabilir. Mide adenokarsinomlarının çoğu antrum ve antro-pilorik bölgede, sıklıkla da küçük kurvaturda yerleşim gösterir. Boyutları 2-10 cm arası değişir. Sadece %15 kadarı 10 cm üzerindedir. Multipl adenokarsinomlar ise %5 oranında görülür (5).

İMK'ler makroskopik olarak ekzofitik, ülser, infiltratif veya kombine olabilir. Borrmann sınıflaması mide karsinomunu dörde ayırır: polipoid (Tip 1), mantarsı (Tip 2), ülser (Tip 3), diffüz infiltratif (Tip 4). Tip 4, tüm mideyi tuttuğunda "linitis plastika" ya da sıklıkla belirgin fibrozis ile birlikte olduğundan skirö karsinom olarak da adlandırılır. Tip 2, mide karsinomlarının %36'sını oluşturur. Sıklıkla antrumda ve küçük kurvatur boyunca yerleşim gösterir. Tip 1 ve Tip 3 ise mide karsinomlarının %25 kadarını oluşturur ve

daha çok korpusta ve büyük kurvatur boyunca yerleşir (5). Tip 3 (ülser) karsinom, penetre bir ülser tabanı ve ülser periferinde belli belirsiz ya da sadece hafif kabarık tümör kitlesi ile karakterlidir. Bu lezyon, Tip 3 erken mide karsinomundan mide duvarında daha derin invazyon yapmasıyla ayrılır. Tümör dokusu küçük olduğunda lezyon benign ülseri taklit edebilir. Ayırıcı tanı için çok sayıda biyopsi ve tüm ülser kenarlarından mikroskopik inceleme için örnek alınması gereklidir.

Mide karsinomları hücresel ve yapısal düzeyde belirgin heterojenite gösterirler. Değişik paternler sıklıkla birarada görülebilir. Sitolojik olarak en sık müköz hücrelere rastlanır. Adenokarsinomda hücrelerin büyük kısmı, intestinal asidik müsin salgılayan kolumnar hücrelerdir. Diffüz infiltratif karsinomda da taşlı yüzük hücrelerinin çoğu goblet hücrelerinden oluşur. Mide mukozasında bulunan foveolar tip müköz hücreler ise adenokarsinomda nadirdir. Bunlar foveolar ya da pilorik bez hücrelerini andırır ve sadece nötral glikoprotein salgılar. Birçok olguda mukus bez yapıları içinde depolanır ve daha sonra stroma içerisine sızabilir. Non-müköz tümör hücreleri sıklıkla, sindirim enzimleri içeren, immatür absorptif hücrelerdir. Diğer hücre tipleri, pilorik bez hücreleri, endokrin hücreler, Paneth hücreleri, parietal hücreler, esas hücreler, skuamöz hücreler ve hepatoid hücreler olabilir. Farklı bileşenleri ayırt etmede histokimyasal ve immunohistokimyasal müsin boyaları (MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6, CD10) kullanılabilir.

Mide karsinomlarında sınıflama sistemleri:

Mide karsinomları için birkaç değişik sınıflama sistemi önerilmiştir. Bunlar içerisinde en sık kullanılanlar Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ile Lauren sınıflamasıdır. WHO, Lauren sınıflamasını da kabul ederek, mide karsinomunun 4 ana tipini tanımlamıştır (Tablo 2). Lauren sınıflamasına göre mide karsinomları, intestinal, diffüz ve tanımlanamayan / sınıflanamayan tip olarak ayrılır. En sık görülen tip olan intestinal tip adenokarsinomlar bez yapıları ile karakterlidir ve değişik diferansiyasyon derecelerinde olabilir. Genellikle yaşlı hastalarda ve sıklıkla antrumda bulunurlar. Atrofik gastrit ve

intestinal metaplazinin eşlik ettiği kronik helikobakter pilori enfeksiyonu ile ilişkilidirler. WHO'nun papiller ve tubuler karsinomları bu kategoriye girer. Her ikisi de adenokarsinom morfolojisindedir ve polipoid veya mantarsı kitleler oluşturur. Papiller tip, santral fibrovasküler kora sahip epiteliyal uzanımlarla karakterlidir. Bu histolojik tip mide karsinomlarının %6-11'ini oluşturur. Daha çok yaşlı hastalarda ve proksimal midede karşımıza çıkar. Karaciğer ve lenf nodu metastazları sıktır. Tubuler tip, değişik büyüklüklerde genişlemiş, anastomoz yapan, dallanan tubullerle karakterlidir. Az diferansiye tümörler solid karsinom, belirgin lenfoid stromaya sahip tümörler ise medüller karsinom olarak isimlendirilir. Her iki tipte de papillayı veya bezi döşeyen hücreler kolumnar ya da küboidal olabilir ve değişik derecelerde atipi ve mitoz içerirler. Kombine tubulopapiller tip de olabilir (5,6).

Tablo 2. Mide karsinomlarının WHO histolojik sınıflaması

Adenokarsinom
İntestinal tip
Diffüz tip
Papiller adenokarsinom
Tubuler adenokarsinom
Müsinöz adenokarsinom
Taşlı yüzük hücreli karsinom
Adenoskuamöz karsinom
Skuamöz hücreli karsinom
Küçük hücreli karsinom
İndiferansiye karsinom
Diğerleri*

*Nadir morfolojik varyantlar bu başlık altında sınıflanır

Lauren diffüz tip karsinomu, mide duvarını diffüz olarak infiltre eden tek tek ya da küçük adalar şeklindeki neoplastik hücrelerden oluşur. Bu tip daha çok genç hastalarda ve korpusta görülür. Helikobakter pilori enfeksiyonu ile ilişkilendirilmesine karşın karsinogenez basamakları kesin değildir. WHO

sınıflamasında yer alan taşlı yüzük hücreli karsinomlar, Lauren sınıflamasında diffüz tip karsinomlar içinde yer alır. Geniş sitoplazmalı, periferik yerleşimli nükleusa sahip, infiltratif hücrelerle karakterlidir. Kordonlar, sıkı gruplar veya solid tabakalar şeklinde olabilir fakat düzgün biçimli bez yapıları izlenmez. Tanı için, tümörün %50'den fazlasının bu tür hücrelerden oluşması gerekir. Histiyosit benzeri hücreler, nötral müsin içeren koyu eozinofilik hücreler ve az miktarda müsinin izlendiği veya müsin içermeyen anaplastik hücrelerin bulunduğu türler olabilir. Mitozlar karakteristik olarak intestinal tip karsinomda olduğundan daha az görülür. İntestinal ve diffüz komponentleri hemen hemen eşit oranda barındıran tümörler mikst (intestinal + diffüz) karsinom olarak adlandırılır (5,6).

Tümörün en az %50'sinin ekstrasellüler müsin gölcüklerinden oluştuğu müsinöz adenokarsinomlar, mide karsinomların %10'unu oluşturur. Hüresel komponent, müsin içerisinde yüzen bez yapılarından ya da düzensiz hücre kümelerinden oluşabilir (5).

İndiferansiye karsinomlar, lenfomalara, skuamöz hücreli karsinoma veya sarkomlara benzeyebilir. Bu tümörler Lauren sınıflamasında tanımlanamayan kategoriye girer. Epitelial fenotipi ortaya koymak için sitokeratin pozitifliğinin gösterilmesi gerekebilir.

Mide veya metaplastik intestinal epitele benzerliğin esas alındığı üç basamaklı derecelendirme sisteminde adenokarsinomlar, iyi diferansiye, orta derecede diferansiye ve az diferansiye olarak sınıflandırılır. İyi diferansiye adenokarsinomlar, matür absorptif veya goblet hücreleriyle döşeli düzgün biçimli bezler ya da papiller yapılardan oluşur. Orta derecede diferansiye karsinomlar, düzensiz dallanan bezler ya da kompleks ve inkomplet papiller yapılarla karakterlidir. Az diferansiye karsinomlar bezi anımsatan yapılar ya da infiltratif hücrelerden oluşur.

Ming'in iki basamaklı sınıflaması ise karsinomların büyüme paternine ve invazivliğine dayanır. İtici tip büyüme gösteren karsinomlar mide karsinomlarının %67'sini oluşturur. Stromadan keskin bir sınırla ayrılan koheziv tümör kitlelerinin itici tarzda büyümesiyle karakterlidir. İnfiltatif karsinomlar, bağımsız olarak yayılan ya da küçük yuvalar oluşturmuş tek tek

infiltratif hücrelerle karakterlidir. İtici tarz büyüme gösteren adenokarsinomlar karakteristik olarak iyi diferansiye intestinal tip tümörlerdir ve genelde diffüz tip adenokarsinom morfolojisinde olan infiltratif karsinomlardan daha iyi bir prognoza sahiptirler (5,7).

Mide karsinomlarında stromal yanıt dört yolla olabilir. Bunlar; belirgin desmoplazi, lenfositik infiltrat, stromal eozinofili ve granümatöz yanıtıdır. Granümatöz reaksiyon, sıklıkla orta şiddette mononükleer hücre infiltrasyonu ile birliktelik gösteren, tek ve birbiriyle birleşen küçük, sarkoid benzeri granülomlarla karakterlidir. Lenfoid yanıt daha uzun sağkalım süresi ile ilişkilidir.

Mide karsinomlarının morfolojik subtipleri:

Nadir histolojik varyantlar mide kanserlerin yaklaşık %5'ini oluşturur.

Bunlar: Lenfoid stromaya sahip mide karsinomu

Hepatoid ve alfa-fetoprotein üreten karsinomlar

Koryokarsinom

Karsinosarkom

Parietal hücreli ve onkositik karsinom

Mukoepidermoid ve paneth hücreli karsinom

Malign rabdoid tümör

Metastatik tümörler şeklinde sıralanabilir.

Mideye metastaz sık değildir. Genellikle primer karsinomu taklit eden büyük kanayan ülserler ya da submukozal tümörler şeklinde karşımıza çıkar. Endoskopik olarak tanı konan mide metastazlarının %65'i soliter lezyonlardır. Malign melanom, akciğer ve meme karsinomları en sık rastlanan primerlerdir. Böbrek, pankreas, özofagus ve kolon karsinomlarının metastazları da görülebilir. Mide duvarının derin tabakalarının infiltrasyonu ve üzerindeki mukozanın hiperplastik görünümü, benign hipertrofik gastriti taklit edebilir. Metastatik lobuler meme karsinomu tipik tek sıralı büyüme paterninden ötürü linitis plastica ile benzerlik gösterebilir. GCDFP-15, östrojen reseptörü ve sitokeratin-7 pozitifliği ile sitokeratin-20 negatifliği tanıda yardımcıdır.

Genetik predispozisyon ve herediter tümör sendromları:

Mide karsinomlarının çoğu sporadik olarak ortaya çıkar. Sadece %8-10'u kalıtsal bir özelliğe sahiptir. Mide karsinomları, ATM5, TP53 (Li Fraumeni sendromu) ve BRCA2 germline mutasyonu bulunan ailelerde nadiren gelişir (6).

Ailesel diffüz mide karsinomu: E-kaderin/CDH1 genindeki mutasyonlar, familial mide sendromunun moleküler temelini oluşturur. Bu hastalarda lobüler meme karsinomu gelişim riskinde de artış bulunmuştur. Pozitif aile hikayesi olan hastalarda genetik danışmanlık ve E-kaderin germline mutasyon testleri yapılması önerilir. Bu hastalarda profilaktik gastrektomi, sağkalımı arttırması açısından düşünülmelidir.

Kalıtsal non-polipozis kolorektal kanser sendromu: Bu hastalarda, özellikle intestinal tip olmak üzere, mide karsinomu gelişebilir ve mide karsinomu bu hastalardaki tüm karsinomların %5-11'ini oluşturur (5).

Ailesel adenomatöz polipozis coli: Bu hastalarda, en sık fundik bez polipleri olmak üzere, multipl mide polipleri gelişir. Bu polipler neoplastiktir ve sıklıkla APC geninde somatik mutasyon gösterirler. Yine de bu lezyonlardan karsinom gelişme riski düşüktür. Bu hastalarda adenomlar da gelişebilir fakat nadirdir.

Li-Fraumeni sendromu: Gastrointestinal sistem tümörleri bu sendromda göreceli olarak daha sık görülür. Mide karsinomları kolon kanserlerinden daha siktir.

Peutz-Jeghers sendromu: Bu hastalarda mide kanser riski artmıştır.

Hiperplastik polipozis: Bu sendrom hiperplastik polipozis, psöriazis, yüksek oranda diffüz tip mide karsinomu gelişimi ile karakterlidir. Otozomal dominant geçiş gösterir.

Tümör yayılımı ve prognostik faktörler

Mide karsinomları, direkt olarak, metastaz yoluyla ya da tümör hücrelerinin peritona saçılması yoluyla yayılırlar. Direkt yayılım yoluyla duodenumu invaze eden tümörler sıklıkla diffüz tiptedir ve bu lezyonlarda serozal, lenfatik, vasküler invazyon ve lenf nodu metastazı görülme oranı yüksektir.

İntestinal karsinomlar, sıklıkla hematojen yolla karaciğere metastaz yaparken diffüz karsinomlar peritoneal yüzeyle metastaz yaparlar. Mikst tümörler, hem intestinal hem de diffüz tip karsinomlarda görülen metastatik yayılım yolunu sergileyebilirler.

Bilateral over tutulumu (Krukenberg tümörü) ise, transperitoneal ya da hematojen yayılım sonucu oluşabilir. Karsinom, serozaya penetre olduğunda peritoneal implantlar ortaya çıkabilir.

Mide karsinomları için en önemli prognostik faktör, tümörün tanı ya da rezeksiyon sırasındaki TNM evresidir (Tablo 3). Evre ile ilişkili faktörler arasında ise lenf nodu tutulumu en önemli faktördür. Bu nedenle geniş lenfadenektomi evrenin doğru değerlendirilmesi açısından çok önemlidir.

Primer tümör (T)

TX: Primer tümör değerlendirilemiyor

T0: Primer tümöre ait bulgu yok

Tis: Karsinoma in situ (lamina propria invazyonu olmaksızın intraepitelial tümör)

T1: Lamina propriayı ya da submukozayı infiltre etmiş tümör

T2: Muskularis propriayı ya da subserozayı infiltre etmiş tümör

T2a: muskularis propriayı infiltre etmiş tümör

T2b: subserozayı infiltre etmiş tümör

T3: Komşu organ invazyonu yapmadan serozaya (visseral periton) penetre tümör*

T4: Komşu organ invazyonu yapmış tümör

*NOT: Mideye komşu yapılar, dalak, transvers kolon, karaciğer, diyafragma, pankreas, abdominal duvar, adrenal bez, böbrek, ince barsak ve retroperitonu kapsar.

Bölgesel lenf nodları (N)

NX: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok*

N1: 1-6 arası bölgesel lenf nodu metastazı

N2: 7-15 arası bölgesel lenf nodu metastazı

N3: 15'ten fazla bölgesel lenf nodunda metastaz

*NOT: Değerlendirilen tüm lenf nodları negatifse, incelenen lenf nodlarının toplam sayısına bakılmaksızın, pN0 terimi kullanılmalıdır.

Uzak metastaz (M)

MX: Uzak metastaz değerlendirilemiyor

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

Tablo 3. Mide karsinomlarında TNM evreleme sistemi

Evre 0	T is	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	T1	N1	M0
	T2a/b	N0	M0
Evre II	T1	N2	M0
	T2a/b	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre IIIA	T2a/b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
Evre IIIB	T3	N2	M0
Evre IV	T4	N1-3	M0
	T1-3	N3	M0
	Herhangi T	Herhangi N	M1

İleri evre mide karsinomlarının prognozu kötüdür. Tanı sonrası ilk bir yıl içerisindeki sağkalım oranı %63'tür. Rezeksiyon sonrası ise 5 yıllık sağkalım oranları %26-35 arasındadır (5). Tümörün, büyüme paternleri şeklinde ifade edilen biyolojik davranışı, prognozu etkiler. İtici tarzda gelişim gösteren karsinomda sağkalım, tümörün diğer özelliklerinden bağımsız olarak, infiltratif karsinomdakinden daha iyidir. Benzer olarak intestinal tip karsinomda prognoz, kısmen lenfatik tutulumla da ilişkili olarak, diffüz tip karsinomdakinden iyidir. Özellikle infiltratif karsinomda sık görülen serozal ve peritoneal tutulumun da prognoz üzerine etkisi vardır. Tümörün taşlı yüzük hücre komponentinin yüzdesi sağkalım süresi ile ters orantılıdır. Stromada yoğun lenfosit ve Langerhans hücre infiltrasyonu iyi prognoz göstergesidir. Diğer iyi prognoz göstergeleri arasında pariyetal hücreler ve endokrin hücrelerin varlığı ve c-myc onkogen ürünü p62 yer alır. Kötü prognoz belirtileri ise, epidermal büyüme faktörü ve reseptörünün, c-erbB-2, p53, CEA, HCG, lizozim ve östrojen reseptörünün overekspresyonu ve tümör hücrelerinde anöploididir. Bir tümör invazyon supresörü olan E-kaderinin azalması veya kaybı, düşük sağkalım oranlarıyla ilişkilidir. Tümörün diferansiyasyon derecesi ve tümör boyutunun prognoz üzerine etkisi kesinleşmemiştir. Prognoz üzerine çok az etkisi olan faktörler ise cinsiyet, yaş, hastaların yaşam süresi, semptomların bulunduğu süre ve tümörün WHO sınıflamasına göre değerlendirilen histolojik tipidir.

ÇALIŞMADAKİ İMMUN BELİRLEYİCİLER

Maspin

Maspin (mammaryan serin proteaz inhibitörü, serpinB5) ilk defa 1994 yılında normal meme dokusu ve meme kanser hücre dizilerinde subtraktif hibridizasyon yöntemi ile bulunmuştur (15,16).

Serin proteaz inhibitör üst ailesi (serpinler), farklı biyolojik fonksiyonları olan geniş bir protein ailesidir (16). Bu ailenin üyeleri inflamasyon, apoptozis, anjiyogenez ve embriyogenez sırasında önemli rol oynarlar. Maspin, serpin ailesi içinde tavuk ovalbuminine benzer sekanslar içeren ov-serpin alt

grubunda yer alır. Maspin hariç diğer bütün insan ov-serpinleri fonksiyonel proteaz inhibitörleri olarak bilinir (16,17). Maspin, plazminojen aktivatör 1 ve 2, α_1 -antitripsin gibi inhibitör serpinlerle ve non-inhibitör serpin ovalbumin ile homoloji gösterir (15).

42 kDa ağırlığında bir protein olan maspin, 10 genlik serpin dizisi içerisinde kromozom 18q21.3'te lokalizedir (18,19). Çalışmalar maspinin sitoplazmada çözünebilen intrasellüler bir protein olduğunu göstermiştir (19). Maspin, hücre tipine bağlı olarak, hücre içinde farklı lokalizasyonlarda görülebilir. Meme epitel hücrelerinde maspin, öncelikle hücre sitoplazmasında lokalizedir, ancak myoepitelyal hücre nükleuslarında, sekretuar veziküllerde ve hücre yüzeyinde de gösterilmiştir. Maspinin hücre içindeki bu farklı yerleşimleri, bazı dokularda anormal lokalizasyonun neoplaziyi işaret etmesi açısından önemlidir. Over karsinomlarında maspinin sitoplazmik lokalizasyonu kötü prognoz ile ilişkili iken, nükleer lokalizasyonu daha benign lezyonları gösterir (16). Sood ve ark. maspinin nükleer lokalizasyonun, bu molekülün belki de aktif formu olduğunu ve önemli bir tümör supresif rolü olabileceğini vurgulamışlardır (19).

İn vitro çalışmalarda maspinin tümör supresör fonksiyonu ortaya konmuştur. Hücre adezyonunda ve diğer serpinlerin aksine apoptoziste artışa, hücre motilitesi, anjiogenezis ve perisellüler proteolizde azalmaya neden olur (15,16,20). Genel olarak maspin tümörlü dokularda iyi diferansiye fenotipi gösterir (17). Bazı deneysel çalışmalarda, malign tümörlerin gelişim ve/veya progresyonunu, p53 bağımlı yol, plazminojen aktivasyon inhibisyonu ve anjiogenezis inhibisyonu aracılığı ile önlediği gösterilmiştir (21). Maspin ekspresyonunun proapoptotik p53 tarafından uyarıldığı, tümör gelişiminin erken evrelerindeki artmış maspin ekspresyonunun da bu yolla hücrenin apoptozisa karşı duyarlılığında artışa neden olduğu söylenmektedir (16). Nakagawa ve ark. yaptıkları çalışmada maspin düzeyi ile p53 düzeyi arasında korelasyon saptanmıştır (21).

Normal insan meme ve prostat epitel hücrelerinde, yüksek maspin ekspresyonu gösterilmiştir. Ancak bu organların kanser hücrelerinde ekspresyon azalmış, metastazlarında ise kaybolmuştur (17,19,20). Oral

skuamöz hücreli karsinomlarda artmış maspin ekspresyonunun iyi prognostik faktör olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (21,22). Buna zıt olarak normal pankreas hücrelerinde maspin ekspresyonu gösterilememişken, pankreas kökenli kanserlerde artmış maspin ekspresyonu saptanmıştır (21,22). Ayrıca maspin ekspresyonu çeşitli çalışmalarla testis, seminal vezikül, vajina, tiroid, mesane, barsak, dil, akciğer, epiderminin epitel hücrelerinde, korneanın stromal hücrelerinde ve timusta da saptanmıştır.

Maspin ekspresyonu mide kanserlerinin biyolojik davranışlarını ortaya koyacak etkin bir belirleyici olarak kabul edilmektedir. Bu yönde yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilmiştir. Wang ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, midede maspin ekspresyonu, normal mukoza, displazi ve kanser hücrelerinde azalan oranda izlenmiştir (23). Azalmış maspin ekspresyonu mide epitel hücrelerinde malign değişimi gösterir. Maspin ekspresyonunun azalması, mide karsinogenezinde geç molekül bir olay olarak kabul edilebilir. Aynı çalışmada maspin ekspresyonu ile tümör invazyonu ve metastazının ters orantılı olduğunun gösterilmesi, maspinin mide kanserinin progresyonu üzerindeki inhibitör etkilerini ortaya koymuştur. Son ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise, mide adenokarsinomlarında maspinin ekspresyon düzeyi, normal mide epitelinden belirgin olarak yüksek, intestinal metaplazili mide epitelinkinden düşük bulunmuştur (24). Miao Yu ve ark. da, mide karsinomu ve normal mukozaya oranla, intestinal metaplazi ve adenomlarda maspinin daha yüksek düzeyde eksprese edildiğini göstermişlerdir (3). Maspin ekspresyonunun midenin prekanseröz lezyonlarında yükseldiği, mide epitelinin malign transformasyonu ile ise düşüşe geçtiğini bildirmişlerdir.

COX-2

Siklooksigenaz (COX), siklooksigenaz ve peroksidaz aktiviteleri olan çift fonksiyonlu bir enzimdir. COX'un siklooksigenaz aktivitesi araşidonik asidin prostaglandin (PG) G2'ye dönüşümündeki ilk basamakta önemlidir. Peroksidaz aktivitesi ise PGH2'ye dönüşümü sağlar. COX'un COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki alt tipi bulunmaktadır. COX-1 normal dokuda hücre

membranında yer alır, sürekli olarak salınır ve mide mukoza bütünlüğünün korunması, trombosit agregasyonun düzenlenmesi gibi fizyolojik olaylarda etkilidir. COX-2 ise birçok normal dokuda saptanmamakla birlikte yangı ve neoplazi sürecinde sitoplazmada ortaya çıkar. Büyüme hormonları, tümör ilerleticileri, bakteriyel endotoksinler, karsinojenler ve sitokinler tarafından COX-2 salınımı indüklenir. Kolon, akciğer, mide ve özofagus karsinomları gibi bir çok malignitede COX-2 ekspresyonu artmıştır. COX-2'nin kanser gelişiminde rolü olduğuna ilişkin çok sayıda veri bulunmaktadır (25-29).

COX enzimleri, COX-1 9. kromozomda, COX-2 1. kromozomda olmak üzere farklı genlerde yer almaktadır. COX-1 576, COX-2 ise 587 amino asitten oluşmakta olup her iki izoenzim boyut ve aktivite şekli açısından benzerdir (30).

COX-2 salınımı PG sentezini uyarır. Bu moleküller, hücresel fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde yardımcı olan lokal hormonlardır. Yarılanma ömürleri kısadır (sıklıkla sadece dakikalar), etkilerini sentezlendikleri hücrede ve komşu hücrelerde gösterirler. Prostaglandinler, özellikle PGH₂, inflamasyon, hücre proliferasyonu, ağrı, angiogenez ve damar tonüsünün kontrolü gibi biyolojik olayların düzenlenmesinde görevlidir (29,31). Bununla birlikte PGE₂ immunoregülatör lenfokinlerin üretimini, T ve B hücre proliferasyonunu ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin sitotoksik aktivitelerini inhibe eder. PGE₂ aynı zamanda tümör nekroz faktörü de inhibe eder. Ek olarak immunosüpresif etkisi olan interlökin 10'u aktive eder (29).

COX-2 aşırı salınımının VEGF, bFGF, TGF, PDGF ve endotelin gibi yeni damar oluşumunu uyararak faktörlerin salınımına neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır. VEGF, neovaskülarizasyon ve kanser progresyonunda kritik role sahip bir angiogenik faktördür. VEGF regülasyonunda en önemli etken hipoksi olup hipoksi araşidonik asitten PGE₂ dönüşümünü sağlayan COX-2'yi de artırmaktadır. PGE₂, (HIF)-1 alfa'nın (hipoksi inducible factor) sitozolden nükleusa taşınmasına, VEGF'nin transkripsiyonunun indüklenmesine neden olmaktadır (29,32).

COX'un araşidonik asidi metabolize etmesiyle bazı mutajenler oluşmaktadır. Araşidonik asidin oksidasyon ürünleri örneğin melandialdehit

oldukça reaktif olup bu madde DNA'da hasara yol açabilmektedir. Tümör hücrelerinde COX-2 aşırı salınımı olduğunda, PG düzeyi artar ve hücreler daha invaziv hale gelirler (29).

COX-2, hücre proliferasyonu, mitoz, hücre adezyonu, apoptozis, immunosüpresyon ve anjiogenez üzerindeki etkileri ile malign transformasyon ve tümör progresyonunda yer almaktadır (29,33). Murata ve ark. mide kanserlerindeki COX-2 overekspresyonunun, tümörün lenf nodu metastazı ve mide duvarındaki lenfatiklere invazyonu ile de yakın ilişkide olduğunu bildirmişlerdir (34).

Bilindiği gibi NSAİ ilaçların hedefi siklooksigenaz (COX) enzimidir. Bu ilaçların düzenli olarak kullanımının, meme, kolon, akciğer kanserine karşı koruyucu etki oluşturabileceğini öne süren epidemiyolojik çalışmalar bulunmaktadır (29).

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)

1989 yılında Ferrara ve ark. sığır hipofiz folliküler hücrelerinin, vasküler endotelial hücreler için spesifik olan yeni bir heparin bağlayıcı büyüme faktörü salgıladığını tespit etmişler ve bunu VEGF olarak isimlendirmişlerdir (35).

VEGF ailesi, VEGFA, VEGFB, VEGFC ve VEGFD ve plasental büyüme faktörünü içeren bir peptid ailesidir. VEGF gelişimin erken dönemlerinde vaskülogenezin potent bir uyarıcısıdır, yetişkinlerde ise anjiogenezde merkezi bir rolü vardır. Tümörlerde, kronik inflamasyonda ve yara iyileşmesinde anjiogenezi yönlendirir. Bolat ve ark. çalışmalarında, VEGFA'nın ekspresyonunun tümörün derecesi ve hastalıktan bağımsız sağkalım oranları ile pozitif olarak korele olduğunu, VEGFC ve VEGFD'nin ise tümör hücrelerinin invazyon yeteneklerini arttırıp erken evrede tümör hücre metastazını kolaylaştırdığını göstermişlerdir (36).

VEGF, endotelial hücreler için oldukça spesifik bir mitojen olarak bilinir ve aynı zamanda endotelial hücrelerce de salgılanır. VEGF, tümör anjiogenezi yanı sıra, tümör hücrelerinin proliferasyonunu indükleyen otokrin ve parakrin bir büyüme faktörü olarak da görev yapar (37). VEGF'in tümöre

ait damarların geçirgenliğini arttırdığı (38), serin proteaz ve metalloproteazları indüklediği (39); endotelial hücre apoptozunu (40) ve dendritik hücre matürasyonunu (41) ise inhibe ettiği çalışmalarla gösterilmiştir. Meme kanseri, küçük hücreli akciğer karsinomu, gastrointestinal tümörler, berrak hücreli böbrek adenokarsinomu, over kanseri, hepatosellüler karsinom, özofagus kanseri, nazofaringeal karsinom ve mide kanseri gibi birçok tümörde VEGF düzeyleri ile metastaz ve/veya kötü prognoz arasında ilişki bulunmuştur (42).

Anjiogenez, tümörün en önemli biyolojik özelliklerinden biridir. Tümör anjiogenezinin, tümörün büyümesi, invazyonu, metastazı ve rekürrensi üzerinde etkisi olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır (43-45). Anjiogeneze katkıda bulunan faktörler içerisinde VEGF, yeni kan damarı oluşumunda etkisi olan en önemli moleküllerden biridir.

Bcl-2 ve Bax

Bcl-2 protein ailesi üyeleri apoptozisin ana düzenleyicileridir. Bcl-2 proteini, t(14;18) kromozom translokasyonları üzerinde yapılan çalışmalar sırasında keşfedilmiştir. Bu translokasyon, Bcl-2 gen ekspresyonu ile karakterli ve apoptozis indüksiyonuna dirençli Hodgkin lenfoma ve folliküler lenfomada sıklıkla bulunur (46).

Bcl-2 ailesi proteinleri, programlanmış hücre ölümünün hem inhibitörlerini hem de düzenleyicilerini içerir. Memelilerde en az 15 Bcl-2 ailesi üyesi saptanmıştır. Diğerleri ise virüslerde bulunur. Antiapoptotik proteinler arasında Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1, Al ve Bcl-w bulunur. Proapoptotik proteinler ise, Bax, Bak, Bcl-Xs, Bad, Bik ve Bid'i içerir. Bunlar arasında en iyi tanımlananlar ise Bcl-2 ve Bax'tır (47). Proapoptotik ve antiapoptotik aile üyeleri heterodimerler ve homodimerler oluşturabilirler. Dimerizasyondaki göreceli konsantrasyonlar ise, hücrelerin apoptotik potansiyelini belirler (48). Tüm bu bulgulara rağmen, Bcl-2 ve Bax proteinleri eşliğinde apoptozisin düzenlenmesindeki mekanizmalar net değildir. Dimerizasyon önemli görünse de, heterodimerizasyonun önemi tartışmalıdır. Son zamanlarda yapılan

alışmalar Bcl-2 ve Bax'ın birbirinden bağımsız olarak da apoptozisi başlatma yeteneğinin olduğunu göstermiştir (49).

Lenfomalarda, kolon, akciğer ve meme karsinomlarında Bcl-2 proteininin anormal ekspresyonu bildirilmiştir. Gastrointestinal sistemde Bcl-2, immunohistokimyasal olarak proliferatif zonda gösterilmiştir. Bu bulgu, Bcl-2'nin mukozanın yenilenme potansiyelini koruduğunu kanıtlar (50). Bcl-2'nin anormal ekspresyonu aynı zamanda mide karsinogenez basamaklarında da gösterilmiştir. Bu alışmalarda Bcl-2'nin, kolon ve mide adenomlarında, malign ya da nonneoplastik lezyonlarında olduğundan daha çok eksprese edildiği gösterilmiştir (51).

Bax ekspresyonu, mide karsinomlarının gelişimi ile fenotipik diferansiyasyonunda ve tümör progresyonunda önemli rol oynar. Anagnostopoulos ve ark. mide karsinomunda Bax'ın negatif ekspresyonunun, dediferansiyasyon, lenf nodu metastazı ve kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermişlerdir (52).

GEREÇ VE YÖNTEM

Olgular

Çalışmamızda Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1999-2009 yılları arasında tanı alan 64 olgu yer almaktadır. Bu olguların 56'sında mide karsinomu, 8'inde displazi, 35'inde ise intestinal metaplazi bulunmaktaydı. Olguların yaş, cinsiyet, tümör yerleşimi, tümör çapı gibi bilgileri klinik istem formlarından ya da dosyalarından elde edilerek kaydedildi.

Hematoksilen eozin boyalı preparatlar tekrar gözden geçirilerek, WHO'nun mide karsinomu histolojik sınıflamasına göre tekrar değerlendirildi ve histopatolojik tanı doğrulandı. Lenf düğümü metastazı TNM evreleme sistemine göre; metastaz yok: 0, 1-6 lenf düğümünde metastaz var: 1, 7-15 lenf düğümünde metastaz var: 2, 15'ten fazla lenf düğümünde metastaz var: 3 olacak şekilde skorlandı. Tümörün invazyon derecesi; lamina propriayı tutmuş ancak muskularis mukozayı aşmamış tümör: 1, submukoza tutulumu olan ancak muskularis propriayı aşmamış tümör: 2, mide duvarını tam kat tutmuş, seroza ve subseroza tutulumu olan tümör: 3 olacak şekilde skorlandı. Tümöre eşlik eden intestinal metaplazi varsa:1, yoksa: 0 olarak skorlandı.

Bu olguların rezeksiyon materyallerinden yapılan örneklemelerin tümör/normal mukoza geçişini içermesine özen gösterildi. Aynı zamanda tümör diferansiyasyonu, damar invazyonu ve varsa lenf nodu metastazı yeniden değerlendirildi. Sağlıklı immunohistokimyasal boyama için, seçilen blokların formalin tespitinden en az etkilenmiş olması açısından lezyondan alınan ilk parçalara ait olmasına dikkat edildi.

İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

Seçilen tüm bloklara maspin, COX-2, VEGF, Bcl-2 ve Bax immünohistokimyasal boyaları uygulandı. İmmünohistokimyasal boyamaların her birinde, pozitif ve negatif kontrol kullanıldı.

%10'luk tamponlanmış formalinde tespit edilip, rutin yöntemlerle takip edilmiş ve parafine gömülmüş dokulardan 4 µ kalınlığında hazırlanan kesitler poly-L-Lizinle kaplı lamlar üzerine alındı. Lamlar 55°C'de etüvde 16 saat kurutuldu. Ksilol ile deparafinizasyon ve alkol ile rehidratasyon işleminden sonra çeşme suyu ve distile su ile yıkanıp endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak amacıyla 10 dakika %3'lük hidrojen peroksidaz solüsyonunda bekletildi. Çeşme suyu ve distile suda yıkanan kesitler sitrat buffer solüsyonu (pH=6.0) içinde maspin, COX-2, VEGF, Bcl-2 ve Bax için 3 dakika basınçlı kapta kaynatıldı. Bu işlemde sonra kesitler oda ısısında soğutuldu. Çeşme suyu ve distile suda yıkandıktan sonra 4 farklı kap içindeki Tris tampon solüsyonunda (TBS) (pH=7.6) 3'er dakika bekletildi. Ardından non-spesifik zemin boyasını önlemek için oda ısısında 10 dakika protein blokajı (DAKO, X0909) yapıldı ve primer antikor uygulamasına geçildi.

Kesitlere insan maspin proteinine yönelik konsantre monoklonal fare antikorü maspin Ab-1 (EAW24) (Neomarkers, MS-1767-S, Lot:1767S803B) 1/25 dilüe edilerek 60 dakika, COX-2 proteinine yönelik konsantre monoklonal tavşan antikorü COX-2 (SP21) (Neomarkers, RM-9121-S0, Lot:9121S708C) 1/50 oranında dilüe edilerek 60 dakika, VEGF proteinine yönelik predilüe monoklonal fare antikorü VEGF Ab-7 (VG1) (Neomarkers, MS-1467-R7, Lot:1467R706C) 60 dakika, Bcl-2 proteinine yönelik predilüe monoklonal fare antikorü Bcl-2 alpha Ab-1 (100/D5) 60 dakika, Bax proteinine ait konsantre monoklonal fare antikorü BAX Ab-1 (2D2) (Neomarkers, MS-711-P, Lot:711P802A) 1/25 oranında sulandırılarak 60 dakika inkübasyon uygulandı.

Kesitler, TBS (pH=7.6) ile 4 kez yıkadıktan sonra sekonder antikor işlemin için sırasıyla biotinylated goat antimouse (Lab Vision) ve streptavidin-peroksidaz (Lab Vision) solüsyonlarında 20 dakika inkübe edildi.

İnkübasyonlar arasında yine TBS (pH=7.6) ile 4 kez yıkandı.

Daha sonra kesitler kromojen olarak diaminobenzidin (DAB, Lab Vision) solüsyonunda 15 dakika bekletilip distile suda 3 dakika yıkandı. Asitsiz ve alkolsüz Mayer hematoksileni ile zıt boyama yapıldıktan sonra çeşme suyu ve distile suda 3'er dakika yıkandı. Alkollerden geçirilen lamalar kurutulduktan sonra şeffaflandırma işlemi için ksilolden geçirildi ve Entellan® (Merck and Co., Berlin) ile kapatıldı.

Uygulama sırasındaki tüm inkübasyonlar oda sıcaklığında, nemli ve kapalı bir ortamda yapıldı.

İmmünohistokimyasal Sonuçların Değerlendirilmesi

Tüm değerlendirmeler standart ışık mikroskopunda x40 büyütmede yapıldı.

COX-2'nin immunoreaktivitesinde pozitif kontrol için kolon adenokarsinomu kullanıldı. COX-2 ile sitoplazmik boyanma esas alındı. Tümörün çeşitli alanlarında birbirine komşu 1000 hücre sayılarak boyanan hücrelerin boyanmayan hücrelere oranlaması yapıldı. Boyanma dağılımı üç kategoriye ayrıldı. %5'ten az hücrede boyanma: 0, %5-30 hücrede boyanma: 1, %30 ve üstü hücrede boyanma: 2 olacak şekilde skorlandı.

VEGF immunoreaktivitesi için iç kontrol olarak damar endotelleri kullanıldı. Tümörün çeşitli alanlarında birbirine komşu 1000 hücre sayılarak boyanan hücrelerin boyanmayan hücrelere oranlaması yapıldı. Boyanma dağılımı iki kategoriye ayrıldı. %20'den az hücrede boyanma: 0, %20'den fazla hücrede boyanma: 1 olarak skorlandı.

Bcl-2 immunoreaktivitesi için pozitif kontrol olarak reaktif tonsil, Bax için ise serviks karsinomu kullanıldı. Hem Bcl-2 hem de Bax için sitoplazmik boyanma esas alındı. Her iki immun belirleyici için tümörün çeşitli alanlarında birbirine komşu 1000 hücre sayılarak boyanan hücrelerin boyanmayan hücrelere oranlaması yapıldı. Boyanma yüzdesi dört kategoriye ayrıldı. %5'ten az hücrede boyanma: 0, %5-25 hücrede boyanma: 1, %25-50 hücrede boyanma: 2, %50'den fazla hücrede boyanma: 3 olarak değerlendirildi.

Maspinin immunoreaktivitesi için pozitif kontrol olarak prostat hiperplazisi kullanıldı. Maspin için sitoplazmik boyanma esas alındı. Nadir

nükleer boyanmalar da kabul edildi. Maspin boyanmasının değerlendirilmesi için, tümörün çeşitli alanlarında birbirine komşu 1000 hücre sayılarak boyanan hücrelerin boyanmayan hücrelere oranlaması yapıldı. Ek olarak boyanma yoğunluğu 0 (negatif), 1+ (zayıf), 2+ (orta), 3+ (güçlü) olarak değerlendirildi. Boyanma yoğunluğu ve boyanan hücrelerin oranı esas alınarak, kombine bir skora sistemi kullanıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçların istatistiksel değerlendirmesinde kişisel bilgisayarda çalışan SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programının 13.0 versiyonu kullanıldı. Korelasyonun araştırılmasında Pearson korelasyon analizi, farklı serilerin anlamlılığının sınanmasında Fisher's exact test (2 yönlü), grupların karşılaştırılmasında "one way" ANOVA testi kullanıldı. Sonuçlar $p < 0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmada toplam 64 olguya ait 56 mide karsinomu, 8 displazi, 35 intestinal metaplazi ve 56 normal mide mukozası, histopatolojik özellikler yanı sıra maspin, COX-2, VEGF, Bcl-2 ve Bax ekspresyonu açısından incelendi. Mide karsinomu olgularının 27'si intestinal tip karsinom, 11'i taşlı yüzük hücreli karsinom, 3'ü diffüz tip karsinom, 2'si müsinöz karsinom, 1'i adenoskuamöz, 2'si tubuler adenokarsinom, 3'ü mikst tip karsinom ve 7'si erken evre mide karsinomuydu. Karsinom olgularının 3'üne teknik yetersizlik nedeniyle immunohistokimya uygulanamadı. Sadece intestinal metaplazi tanısı almış olan 3 hasta ise, sayı azlığı sebebiyle istatistiksel çalışmaya dahil edilmedi. Kalan 32 intestinal metaplazili hastada ise eş zamanlı mide karsinomu da bulunmakta olup, bu tümörlerin 20'si intestinal tip, 7'si diffüz tip, 2'si müsinöz karsinom, 1'i papiller adenokarsinom, 2'si ise mikst tip (diffüz + intestinal) mide karsinomuydu.

DEMOGRAFİK BULGULAR

Yaş ve Cinsiyet

Karsinom olgularının 24'ü kadın, 32'si erkek hasta idi. Bunların yaşları 41 ile 82 arasında değişmekte olup (ort. 61,5), en büyük olgu grubunun "70 yaş ve üstü" grup olduğu görüldü (Tablo 4).

Tablo 4. Karsinom olgularının yaş ve cinsiyet dağılımı

ON YIL	OLGU SAYISI		TOPLAM	TOPLAM (%)
	Kadın	Erkek		
40-49	2	3	5	8,93
50-59	6	8	14	25
60-69	6	11	17	30,4
70 ve üstü	10	10	20	35,7
TOPLAM	24 (%42,9)	32 (%57,1)	56	100

Tüm karsinom olgularının 7'si erken evre mide karsinomuydu. Bu olguların 5'ini kadın, 2'sini erkek hastalar oluşturmakta olup, hastaların yaş ortalaması 63 idi.

Displazi olgularının 3'ü kadın, 5'i erkek idi. Yaşları 47 ile 76 arasında olup (ort. 60,62), olguların çoğunun beşinci ve altıncı onyıllarda olduğu görüldü (Tablo 5).

Tablo 5. Diplazi olgularının yaş ve cinsiyet dağılımı

ONYIL	OLGU SAYISI		TOPLAM	TOPLAM (%)
	Kadın	Erkek		
40-49	0	1	1	12,5
50-59	2	1	3	37,5
60-69	1	2	3	37,5
70 ve üstü	0	1	1	12,5
TOPLAM	3 (%37,5)	5 (% 62,5)	8	100

HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Tümör tipleri ve yerleşimleri

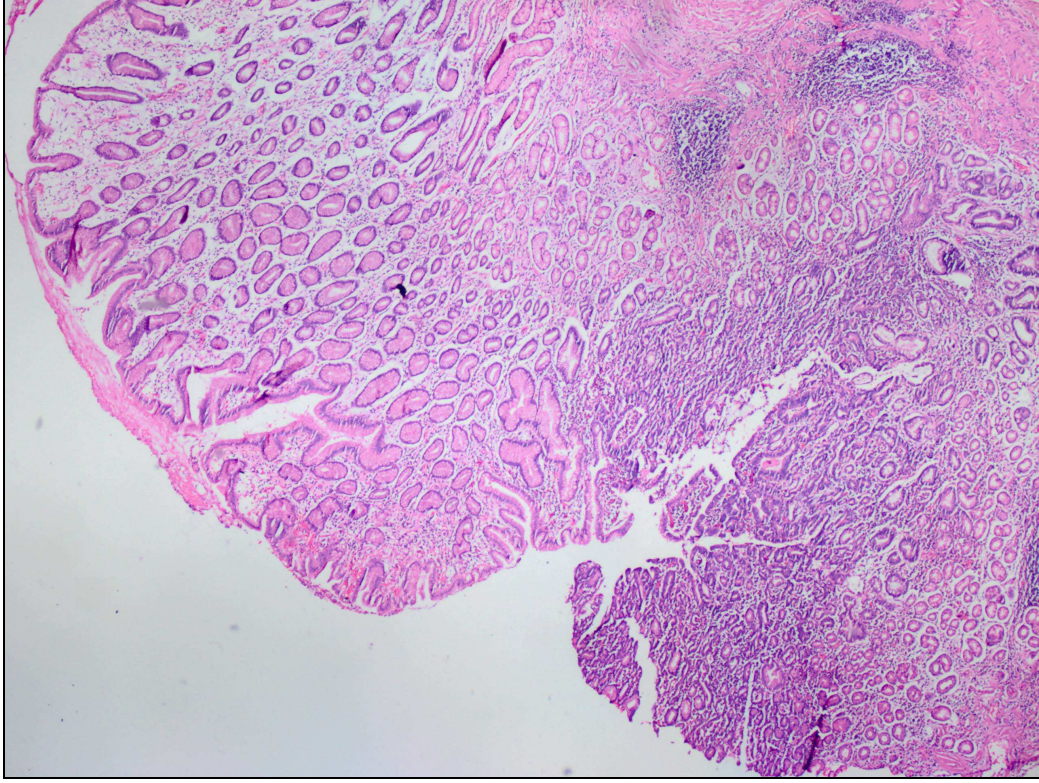
Karsinomların yerleşim bölgeleri antrum, korpus ve kardia olmak üzere üç grupta değerlendirildi ve büyük çoğunluğunun antrumda (%71,4) yerleştiği saptandı.

Tümörlerin histolojik tipleri diffüz-taşlı yüzük hücreli karsinom, intestinal karsinom, mikst (intestinal + diffüz) karsinom, müsinöz adenokarsinom, adenoskuamöz karsinom ve tubuler adenokarsinom şeklindeydi. Ayrıca yedi olgu diffüz, intestinal ve mikst tip karsinomlardan oluşan erken evre karsinomlardı (Resim 1, 2).

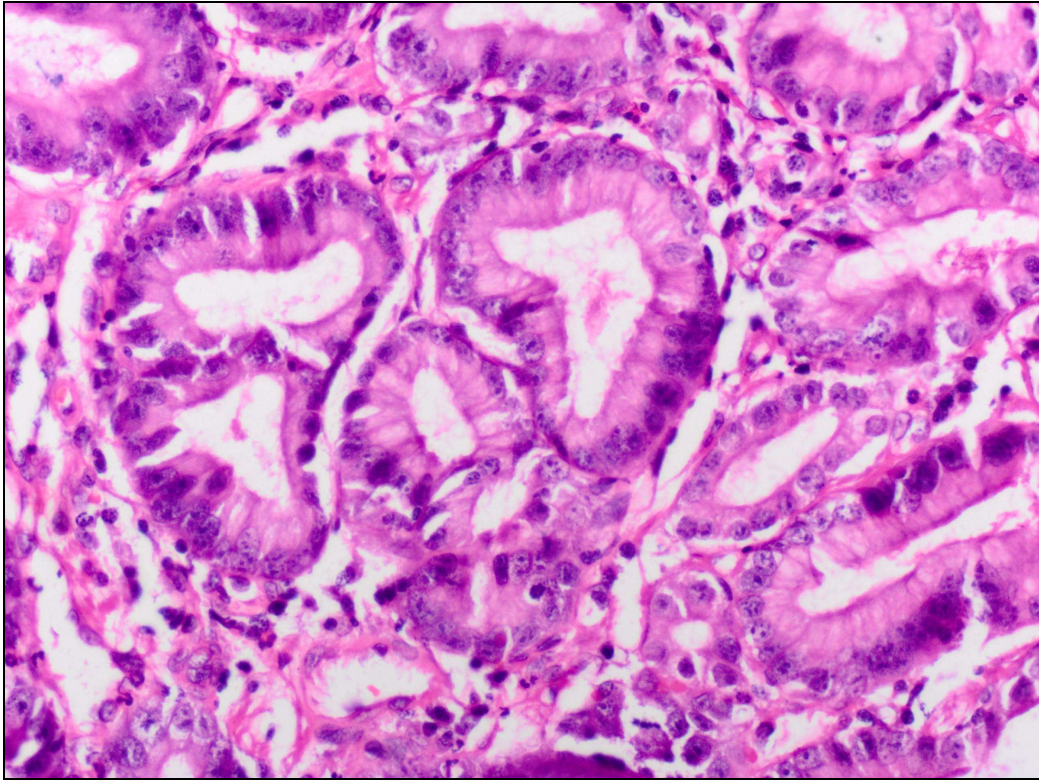
Karsinom olgularının yerleşim bölgelerine ve tümör tiplerine göre dağılımı Tablo 6'de gösterildi.

Tablo 6. Tümör tipleri ile yerleşimlerinin dağılımı

TÜMÖR TİPİ	TÜMÖR YERLEŞİMİ			TOPLAM	TOPLAM (%)
	ANTRUM	KORPUS	KARDİA		
Diffüz - taşlı Yüzük hücreli	10	3	1	14	25
İntestinal	17	5	5	27	48,2
Müsinöz	2	0	0	2	3,6
Adenoskuamöz	0	1	0	1	1,8
Erken evre	6	0	1	7	12,5
Mikst	3	0	0	3	5,4
Tubuler Adenokarsinom	2	0	0	2	3,6
TOPLAM	40 (%71,4)	9 (%16,1)	7 (%12,5)	56	100,0



Resim 1. İntestinal tip mide karsinomu ile normal mide mukozası geçişi (HE, x4)



Resim 2. Mide epitelinde displazi (HE, x40)

Tümör çapı ve invazyon derinliği

Olguların tümör çapları 0,3 cm ile 15 cm arasında değişmekteydi (ort. 5,94).

Tümörlerin büyük çoğunluğu 5,1-10 cm arası gruptaydı.

Tümöral lezyonların invazyon derinliği TNM evreleme sistemi esas alınarak skorlandı. Buna göre; lamina propriayı ya da submukozayı infiltre etmiş tümör: 1, muskularis propriayı ya da subserozayı infiltre etmiş tümör: 2, serozaya penetre tümör: 3 olarak değerlendirildi.

Karsinom olgularının tümör çapı ve invazyon derinlikleri arası ilişkileri ve dağılımları Tablo 7’de gösterildi.

Tablo 7. Tümör çapı ve invazyon derinliklerinin dağılımı

TÜMÖR ÇAPI	İNVAZYON DERİNLİKLERİ			TOPLAM	TOPLAM (%)
	1	2	3		
2 cm altı	4	2	1	7	12,5
2,1-5 cm	0	6	14	20	35,7
5,1-10 cm	3	2	18	23	41,1
10,1 cm’den büyük	0	0	6	6	10,7
TOPLAM	4 (%7,1)	10 (%17,9)	42 (%75)	56	100

Buna göre, tümör çapı arttıkça invazyon derinliği de artmaktaydı.

Tümör çapı ile invazyon derinliği arasında pozitif korelasyon saptandı (PKT, $p<0,001$).

Erken evre mide karsinomları invaziv karsinomlarla karşılaştırıldığında, tümör çapının invaziv grupta daha büyük olduğu görüldü (OWA, $p=0,010$).

Lenf nodu metastazı

Karsinom olgularının lenf nodu metastazları TNM evreleme sistemi esas alınarak skorlandı. Buna göre; metastaz yok: 0, 1-6 lenf nodunda metastaz: 1, 7-15 lenf nodunda metastaz: 2, 15’ten fazla lenf nodunda metastaz: 3 olarak değerlendirildi.

Olguların tümör çapları ve lenf nodu metastazları arası ilişkileri ve dağılımları Tablo 8'de, invazyon derinliği ve lenf nodu metastazı arası ilişkileri ve dağılımları ise Tablo 9'da gösterildi.

Tablo 8. Tümör çapı ve lenf nodu metastazı dağılımı

TÜMÖR ÇAPI	LENF NODU METASTAZI				TOPLAM	TOPLAM (%)
	0	1	2	3		
2 cm altı	5	1	1	0	7	12,5
2,1-5 cm	8	6	4	2	20	35,7
5,1-10 cm	3	6	6	8	23	41,1
10,1 cm'den büyük	1	2	0	3	6	10,7
TOPLAM	17 (%30,4)	15 (%26,8)	11 (%19,6)	13 (%23,2)	56	100

Buna göre tümör çapı arttıkça metastatik lenf nodu sayısının da arttığı görüldü. Tümör çapı ile lenf nodu metastazı arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı (PKT, $p<0,001$).

Erken mide karsinomları ileri evre mide karsinomlarıyla karşılaştırıldığında, invaziv grupta metastatik lenf nodu sayısının daha yüksek olduğu saptandı (OWA, $p=0,002$).

Tablo 9. Lenf nodu metastazı ve invazyon derinliklerinin dağılımı

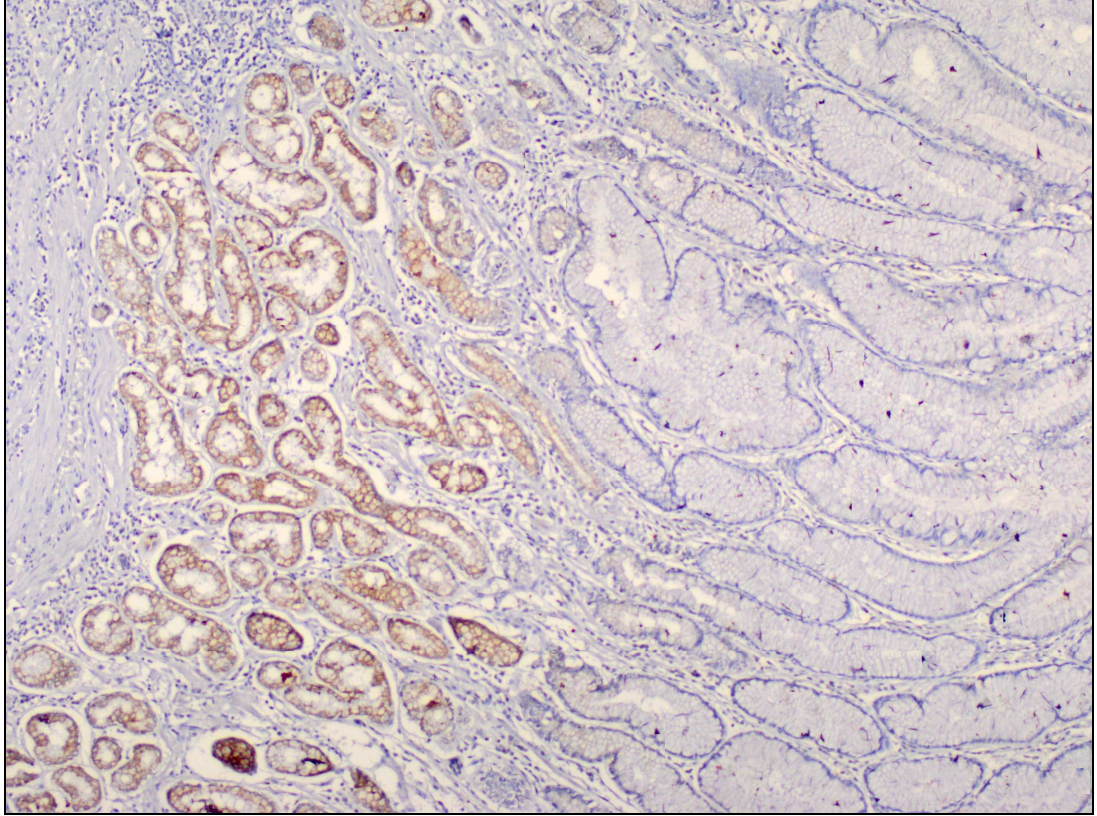
LENF NODU METASTAZI	İNVAZYON DERİNLİKLERİ			TOPLAM	TOPLAM (%)
	1	2	3		
0 (LN met yok)	4	8	5	17	30,4
1 (1-6 LN)	0	2	13	15	26,8
2 (7-15 LN)	0	0	11	11	19,6
3 (15'ten fazla LN)	0	0	13	13	23,2
TOPLAM	4 (%7,1)	10 (%17,9)	42 (%75)	56	100

Buna göre, invazyon derinliği arttıkça metastatik lenf nodu sayısının da arttığı dikkati çekti. İnvazyon derinlikleri ile lenf nodu metastazının pozitif korele olduğu saptandı (PKT, $p<0,001$)

İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Maspinin boyanma özellikleri

Maspin, olağan mide mukozasında bazal zondaki bez epitelinde pozitif boyanma göstermekteydi (Resim 3). Bu boyanma çoğunlukla hücrelerde sitoplazmik boyanma şeklinde izlendi ancak nadir nükleer boyanmalar da saptandı. Maspinin immunohistokimyasal boyanması Tablo 10'da gösterildiği gibi değerlendirildi.



Resim 3. Normal mide mukozasında maspin immunoreaktivitesi (x10)

Tablo 10. Maspinin immunohistokimyasal değerlendirmesi

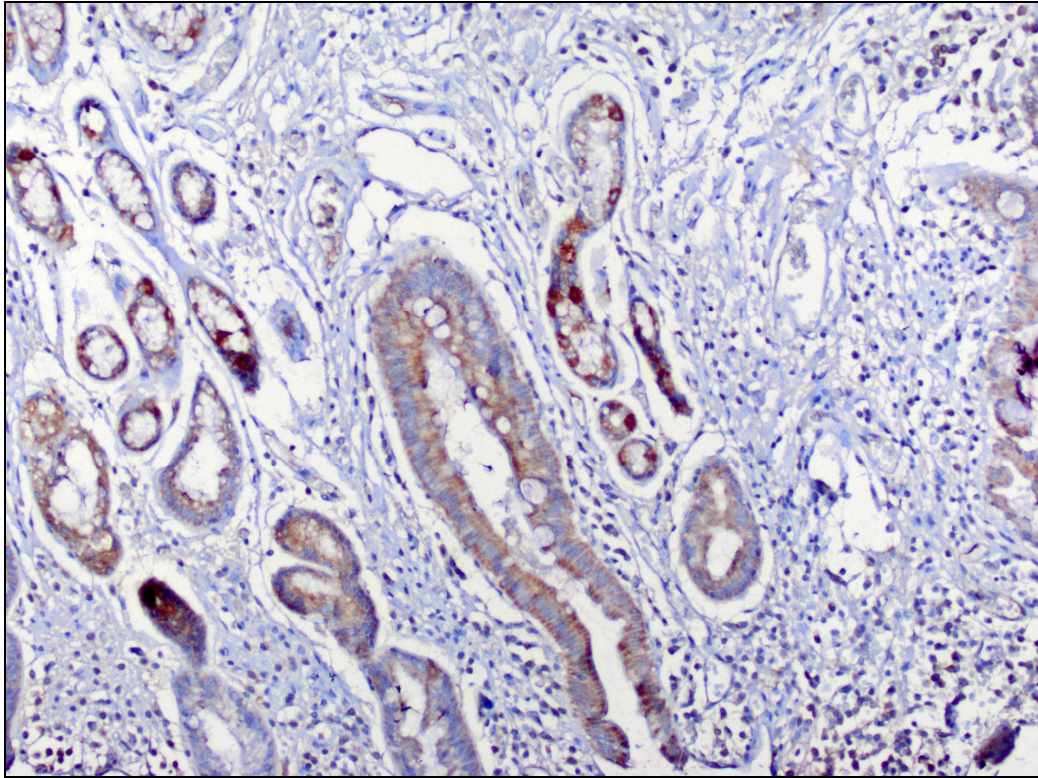
Boyanma yüzdesi	Boyanma yoğunluğu	Kombine boyanma skoru
%0-4	0	Negatif
%5-10 %5-49	+1,2,3 +1	Düşük ekspresyon
>%10 >50	+2,3 +1,2,3	Yüksek ekspresyon

Değerlendirmeye alınan 32 intestinal metaplazi olgusunun sadece 5'inde (% 16,1) negatiflik saptanırken, geriye kalan 27 (%83,9) olguda yüksek ekspresyon şeklinde pozitiflik saptandı (Resim 4).

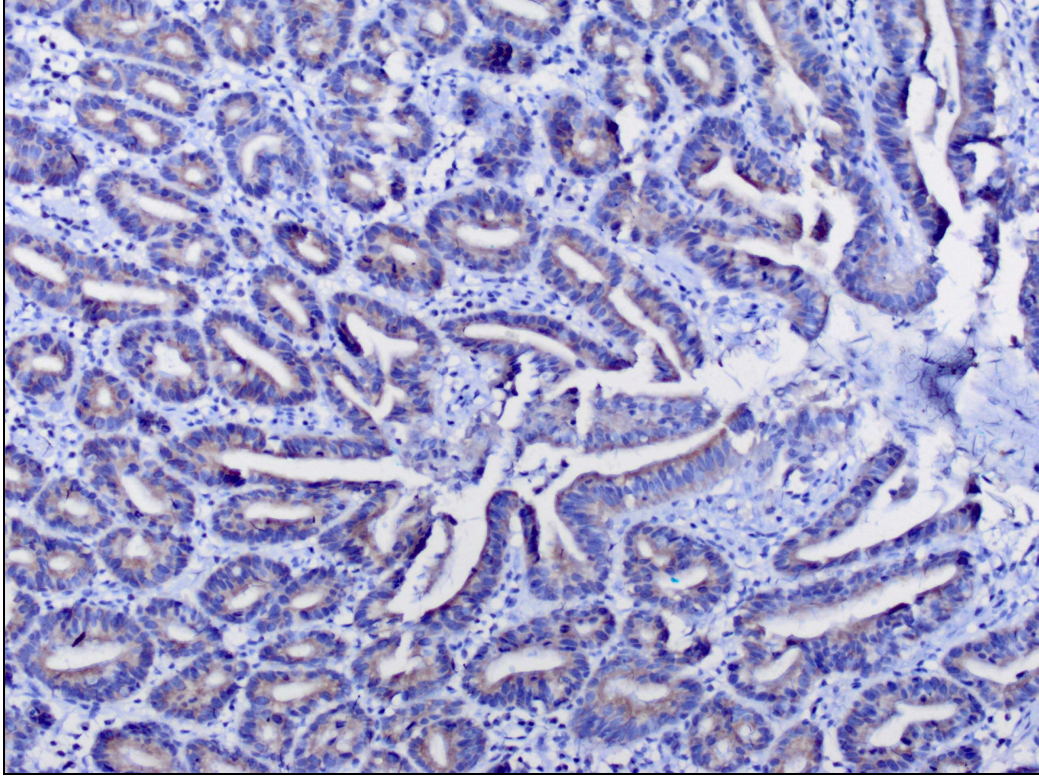
8 adet displazi olgusunun 5'inde (%62,5) maspin ile boyanma gözlenmedi. 2'sinde (%25) düşük ekspresyon, 1'inde (%12,5) ise yüksek ekspresyon izlendi (Resim 5).

İmmünohistokimya uygulanan 53 mide karsinomu olgusunun 23'ü (%43,4) maspin ile negatif boyanma gösterirken, 17'si (%32,1) düşük ekspresyon, 13'ü (%24,5) ise yüksek ekspresyon olarak değerlendirildi (Resim 6,7).

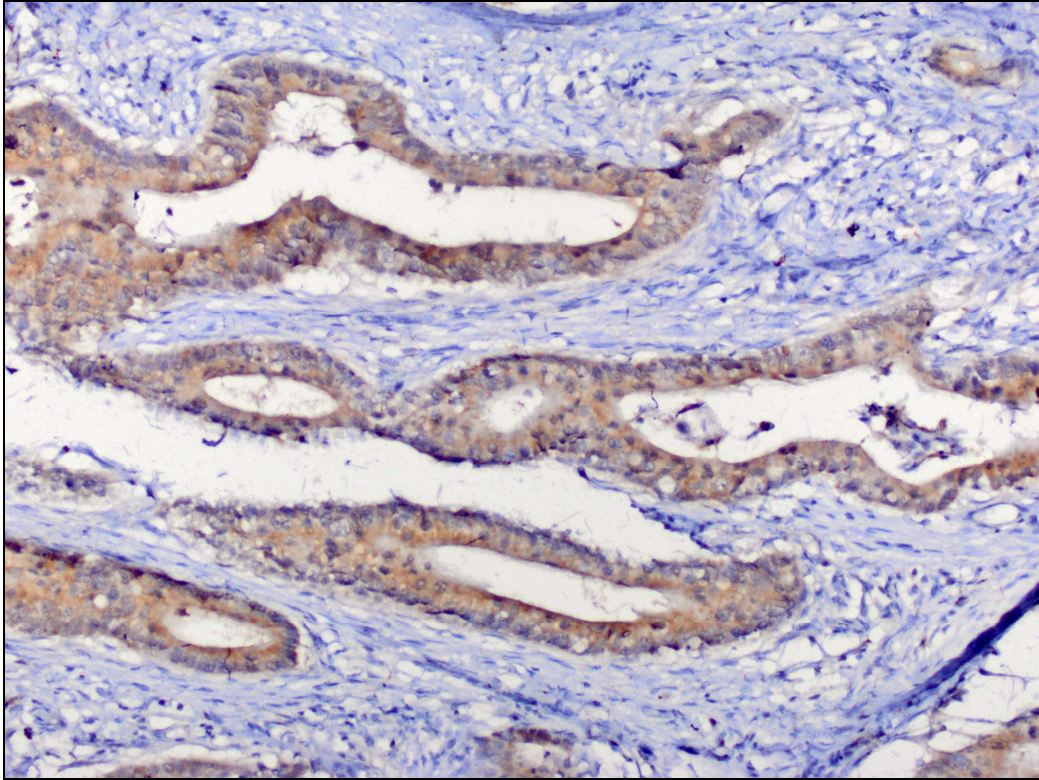
Tanı gruplarına göre maspin boyanma oranları Tablo 11'de gösterildi.



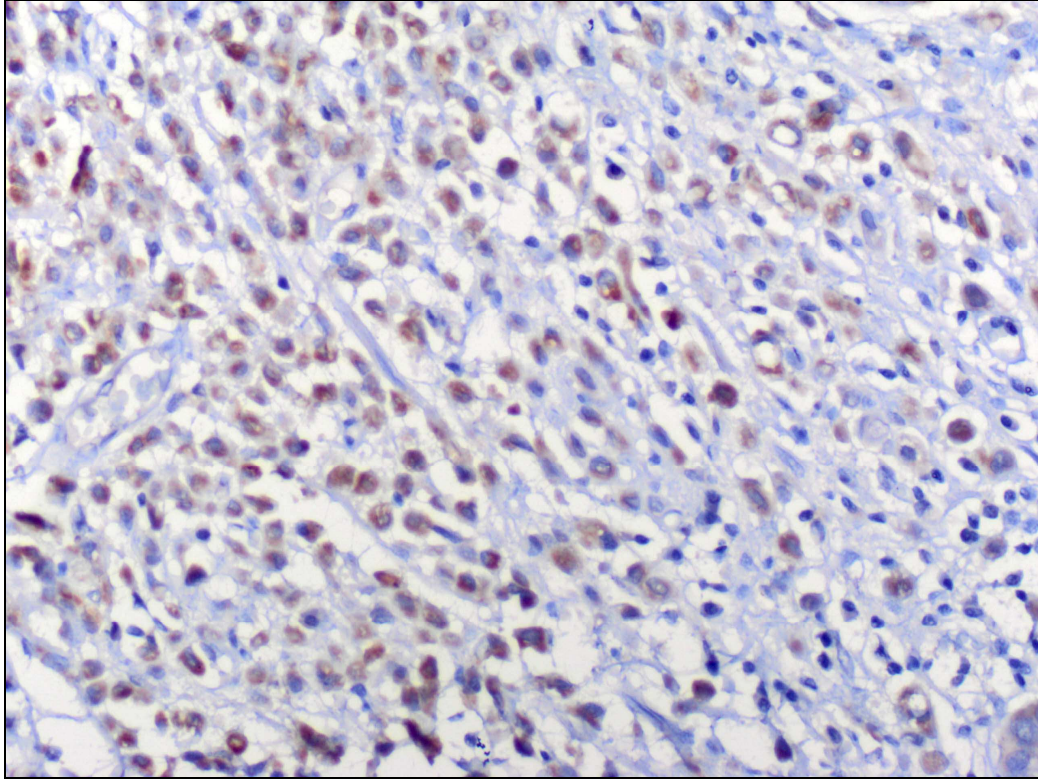
Resim 4. İntestinal metaplazi alanlarında maspinin nükleer ve sitoplazmik pozitifliği (x20)



Resim 5. Displastik mide epitelinde maspin pozitifliği (x20)



Resim 6. İntestinal tip mide karsinomunda maspin pozitifliği (x20)



Resim 7. Diffüz tip mide karsinomunda maspin pozitifliği (x40)

Tablo 11. Tanı gruplarına göre maspinin boyanma oranları

TANI GRUPLARI	BOYANMA SKORU			POZİTİFLİK ORANI (%)
	Negatif	Düşük ekspresyon	Yüksek ekspresyon	
Karsinom (n=53)	23	17	13	56,6
Displazi (n=8)	5	2	1	37,5
İntestinal metaplazi (n=32)	5	0	27	83,9
Normal mide mukozası (n=56)	0	0	56	100

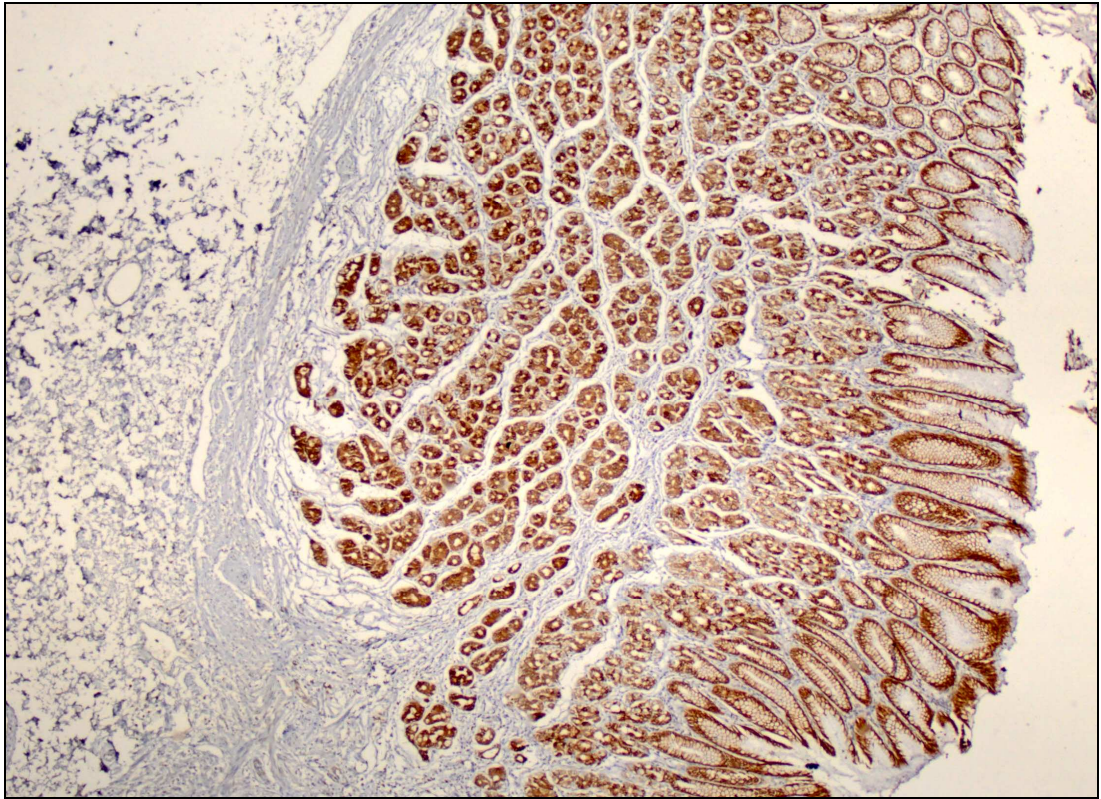
Tablodaki veriler değerlendirildiğinde, normal mide mukozası örneklerinin tümünün maspin ile yüksek ekspresyon şeklinde pozitif boyanma gösterdiği dikkati çekti. İntestinal metaplazi grubunda ise sadece %16,1

olguda maspin negatif, geriye kalan olgularda ise yüksek ekspresyon şeklinde pozitif. Karsinom ve displazi gruplarında ise negatiflik oranının arttığı dikkati çekti. Karsinom ve intestinal metaplazi ($p=0,006$), karsinom ve normal mide mukozası ($p<0,001$), displazi ve intestinal metaplazi ($p=0,009$), displazi ve normal mide mukozası ($p<0,001$) arasında maspinin pozitif veya negatifliği açısından istatistiksel anlamlı fark gözlemlendi.

Ayrıca intestinal ve diffüz tip karsinomlar, maspin boyanması açısından karşılaştırıldığında, intestinal tipte maspin pozitifliğinin daha yüksek olduğu görüldü ($p=0,009$).

COX-2'nin boyanma özellikleri

Çalışmamızda, sitoplazmik boyanma gösteren COX-2'nin, normal mide mukozası ve intestinal metaplazi örneklerinin tümünde güçlü pozitif boyanma gösterdiği saptandı (Resim 8). COX-2'ye ait immunohistokimyasal değerlendirme çizelgesi Tablo 12'de gösterildi.

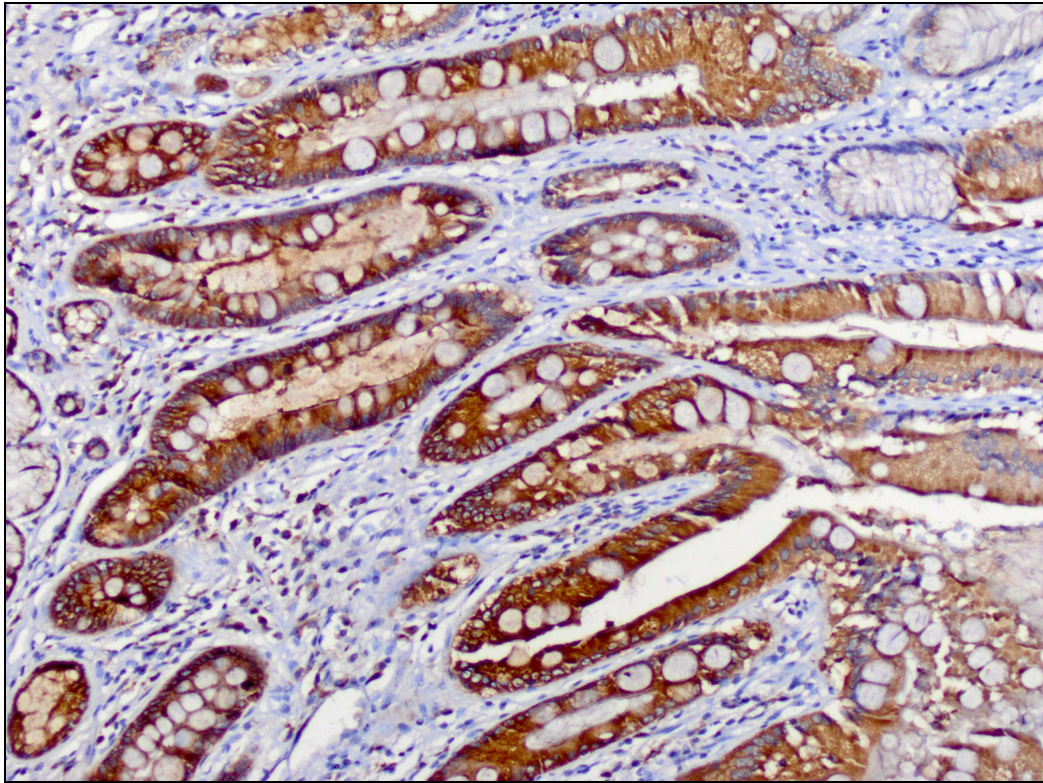


Resim 8. Normal mide mukozasında COX-2 immunoreaktivitesi (x4)

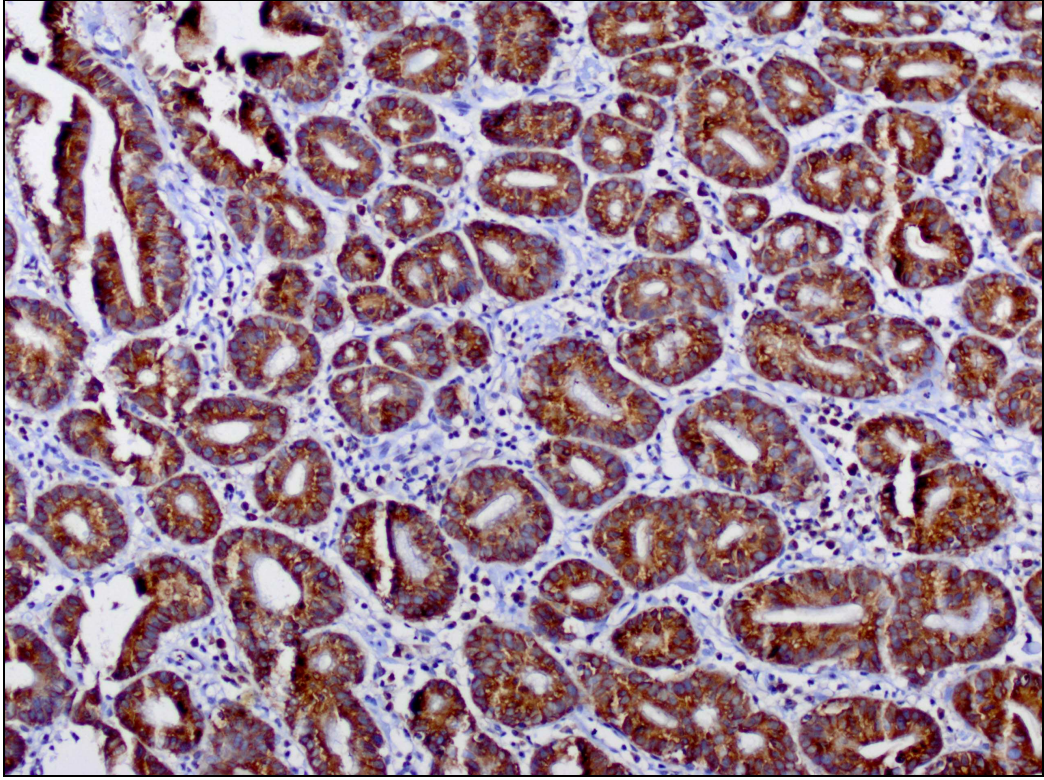
Tablo 12. COX-2'ye ait immunohistokimyasal değerlendirme

Boyanma yüzdesi	Boyanma skoru
%5 ve altı	0
%5-30	1
%30 üstü	2

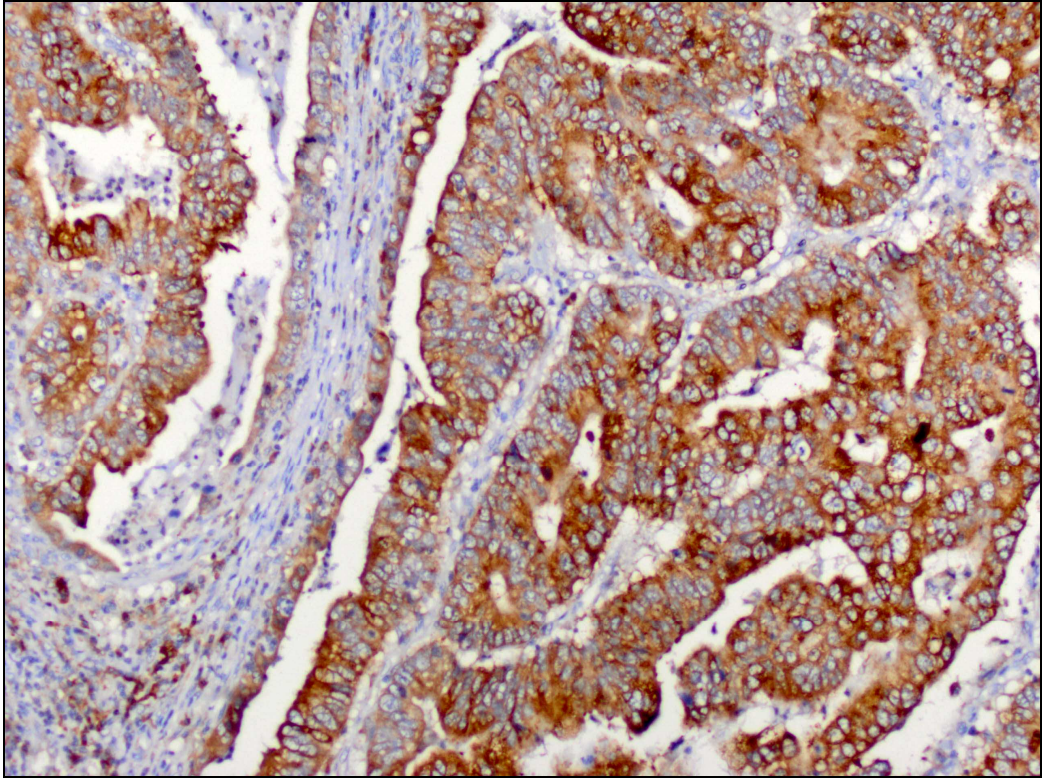
İmmunohistokimya uygulanan 53 mide karsinomu olgusunun 50'si (%94,3) COX-2 ile pozitif boyanma gösterirken, displazi, intestinal metaplazi ve normal mide mukozası olgularının tümü COX-2 ile pozitif boyanma gösterdi (Resim 9-12). Tanı gruplarına göre COX-2 boyanma oranları Tablo 13'te gösterildi.



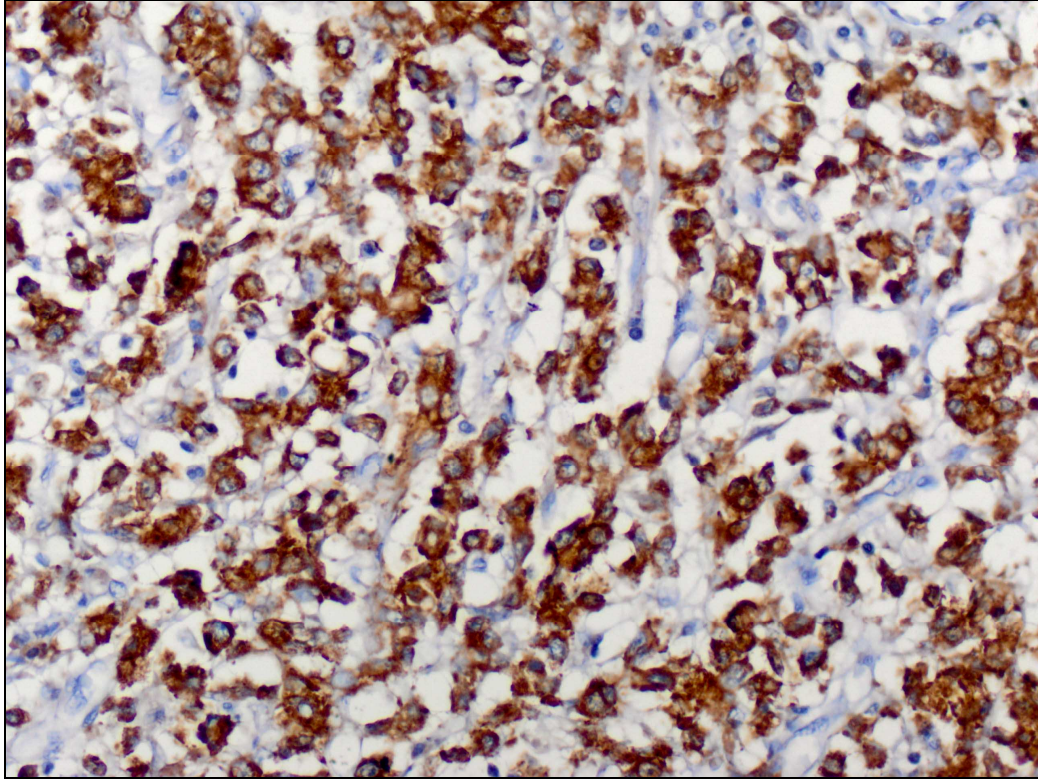
Resim 9. İntestinal metaplazi alanlarında COX-2 pozitifliği (x20)



Resim 10. Displastik mide epitelinde COX-2 pozitifliği (x20)



Resim 11. İntestinal tip mide karsinomunda COX-2 pozitifliği (x20)



Resim 12. Diffüz tip mide karsinomunda COX-2 pozitifliği (x40)

Tablo 13. Tanı gruplarına göre COX-2 boyanma oranları

TANI GRUPLARI	BOYANMA SKORU			POZİTİFLİK ORANI (%30 üstü)
	0	1	2	
Karsinom (n=53)	3	4	46	86,8
Displazi (n=8)	0	1	7	87,5
İntestinal metaplazi (n=32)	0	0	32	100
Normal mide mukozası (n=56)	0	0	56	100

Bulgularımıza göre, intestinal metaplazi ve normal mide mukozası olgularının tamamı, displazi ve karsinom olgularının ise yarısından fazlası COX-2 ile %30 üstü pozitif boyanma göstermekteydi. Negatiflik oranları düşük

olduğu için, istatistiksel değerlendirme %30 üstü ve altı pozitif boyanma oranına göre yapıldı. Bu değerlendirmeye göre, karsinom ile intestinal metaplazi ($p<0,001$), karsinom ile normal mide mukozası ($p<0,001$), displazi ile intestinal metaplazi ($p<0,001$) ve displazi ile normal mide mukozası ($p<0,001$) arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi.

VEGF'in boyanma özellikleri

VEGF ile hücrelerde sitoplazmik boyanma esas alındı. Tüm olgu gruplarında pozitif boyanmalar çoğunlukla zayıf boyanma şeklindeydi. VEGF için kullanılan immunohistokimyasal değerlendirme Tablo 14'te gösterildi.

Tablo 14. VEGF için immunohistokimyasal değerlendirme

Boyanma yüzdesi	Boyanma skoru
% 20 altı	0
%20 üstü	1

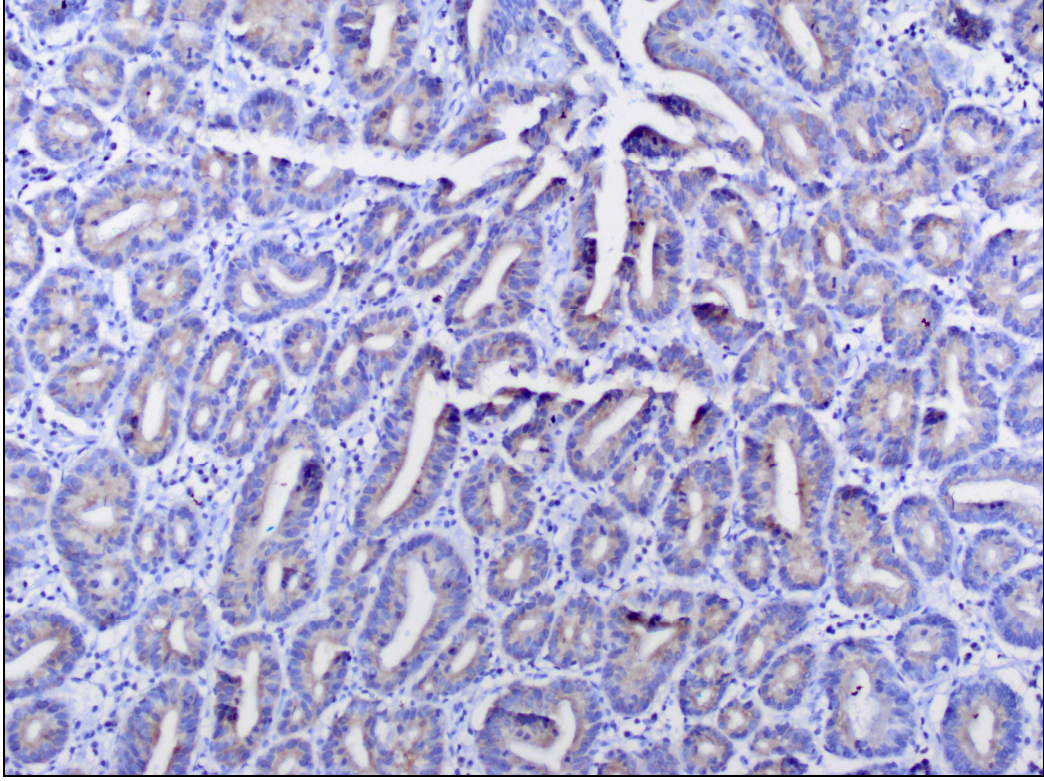
56 adet normal mide mukozasının 9'u (% 16,1) negatif iken, 47'si (%83,9) pozitif boyanma göstermekteydi.

İntestinal metaplazi olgularının 18'i (% 58,1) negatif, 14'ü (% 41,9) ise VEGF ile pozitiflik göstermekteydi.

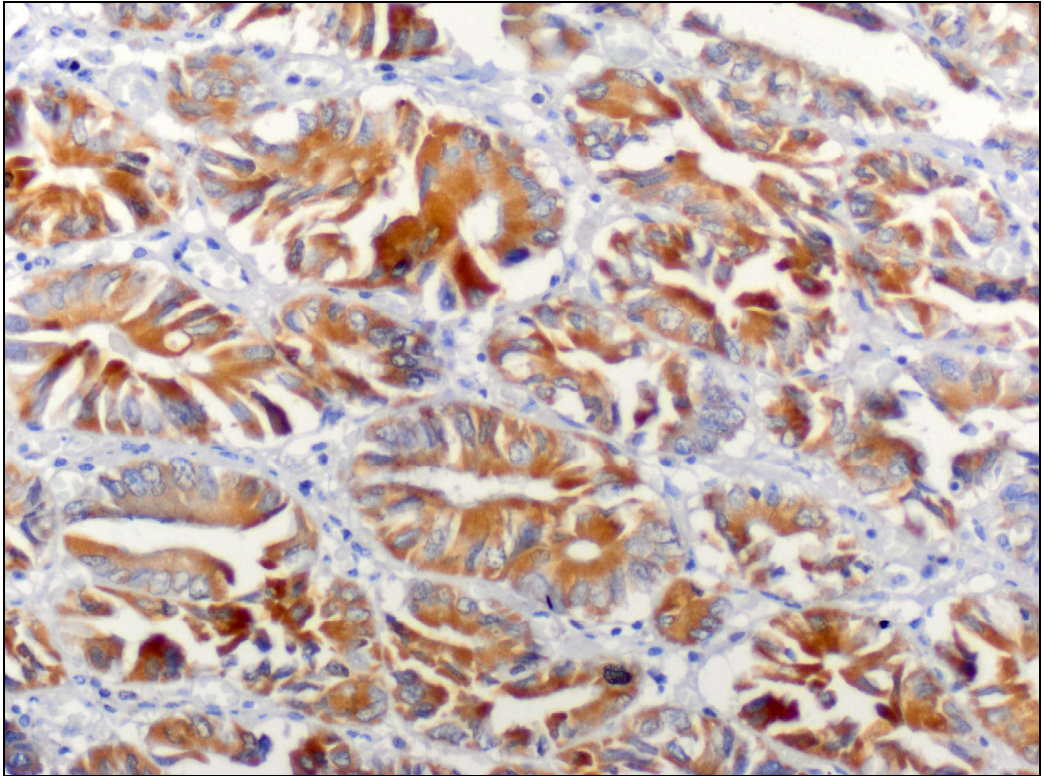
8 adet displazi olgusunun 4'ü pozitif, 4'ü ise negatif olarak değerlendirildi (Resim 13).

İmmunohistokimya uygulanan 53 mide karsinomu olgusunun 39'u (%73,6) VEGF ile negatif boyanma gösterirken, 14'ünde (%26,4) pozitif boyanma saptandı (Resim 14-15).

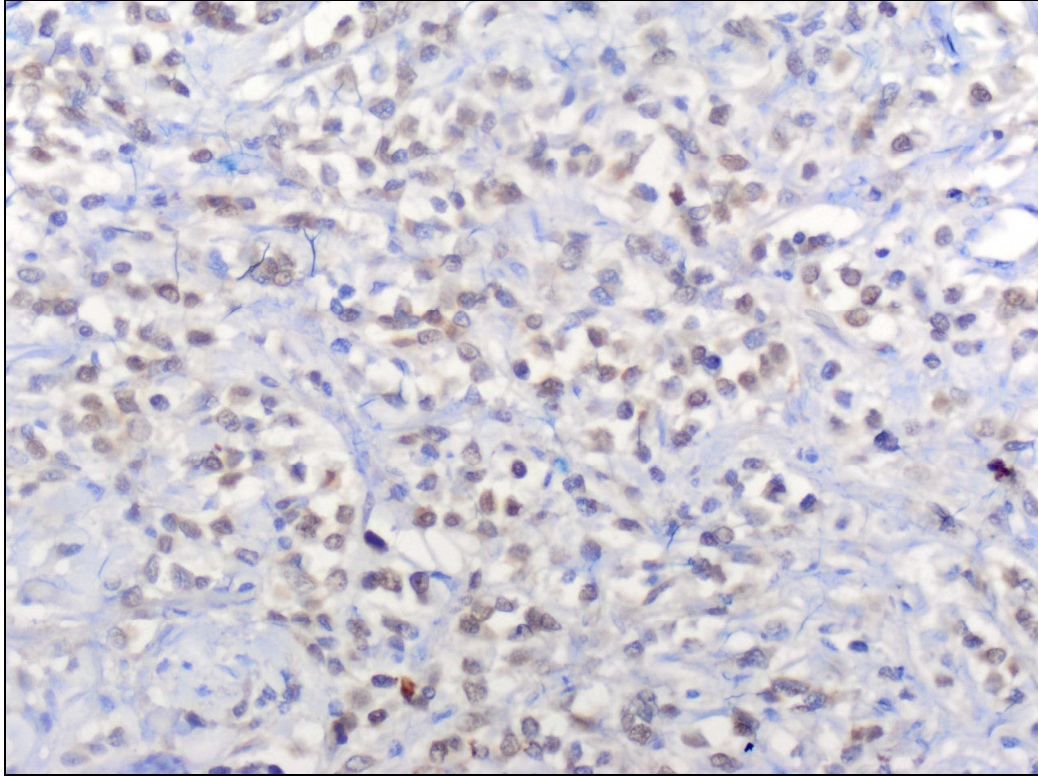
Tanı gruplarına göre VEGF boyanma oranları Tablo 15'de gösterildi.



Resim 13. Displastik mide epitelinde VEGF pozitifliği (x20)



Resim 14. İntestinal tip mide karsinomunda güçlü VEGF pozitifliğinin izlendiği az sayıdaki olgulardan biri (x40)



Resim 15. Diffüz tip mide karsinomunda VEGF pozitifliği (x40)

Tablo 15. Tanı gruplarına göre VEGF boyanma oranları

TANI GRUPLARI	BOYANMA SKORU		POZİTİFLİK ORANI (%)
	0	1	
Karsinom (n=53)	39	14	26,4
Displazi (n=8)	4	4	50
İntestinal metaplazi (n=32)	18	14	41,9
Normal mide mukozası (n=56)	9	47	83,9

Bu bulgulara göre, VEGF'in normal mide mukozası olgularının büyük çoğunluğunda pozitiflik gösterdiği, karsinom ve intestinal metaplazi olgularının ise yarıdan fazlasında negatif olduğu dikkati çekti. Normal mide

mukozası ve karsinom ($p<0,001$), normal mide mukozası ve intestinal metaplazi ($p<0,001$) arasında, VEGF boyanması açısından istatistiksel anlamlı fark gözlemlendi.

Bcl-2 ve Bax'ın boyanma özellikleri

Bcl-2 ve Bax immun belirleyicileri için sitoplazmik ve nükleer membran pozitifliği esas alındı. Bax ve Bcl-2, olağan mide mukozasında proliferatif zondaki bez epitelinde pozitif boyanma göstermekteydi. Bcl-2 ve Bax için ortak immunohistokimyasal değerlendirme kullanıldı (Tablo 16).

Tablo 16. Bcl-2 ve Bax için immunohistokimyasal değerlendirme

Boyanma yüzdesi	Boyanma skoru
%5 altı	0
%5-25	1
%25-50	2
%50 üstü	3

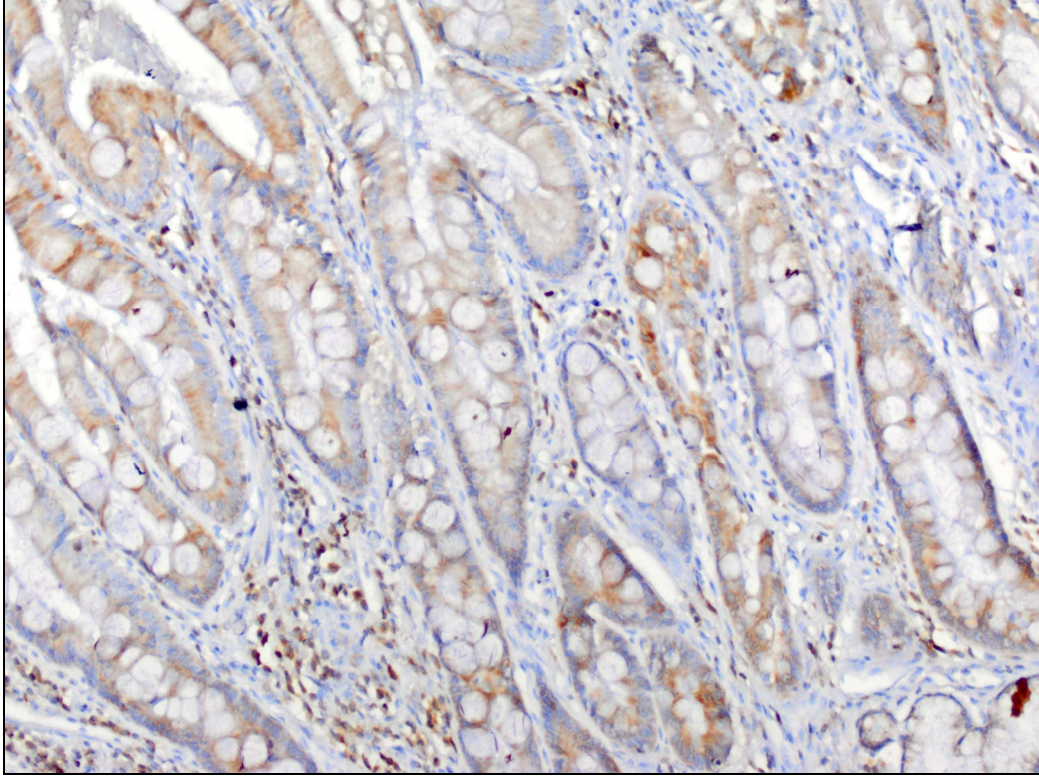
56 adet normal mide mukozası olgusunun 12'sinde (% 21,4) Bcl-2 negatifken, 44'ü (%78,6) pozitif boyandı.

İntestinal metaplazi olgularının 18'i (% 58,1) negatif, 14'ü (% 41,9) ise Bcl-2 ile pozitiflik göstermekteydi (Resim 16).

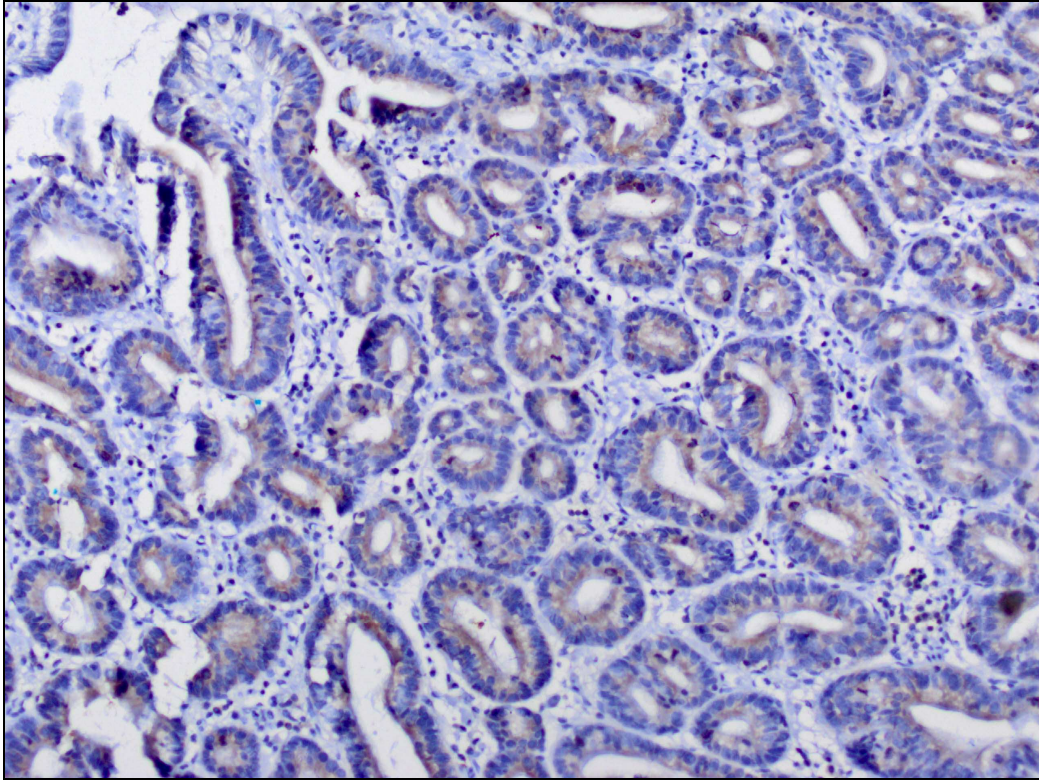
8 adet displazi olgusunun 5'inde (%7,8) negatif, 1'inde (%1,6) zayıf pozitif, 2'sinde (%3,1) ise ılımlı pozitif boyanma izlendi (Resim 17).

İmmunohistokimya uygulanan 53 mide karsinomu olgusunun 45'i (%84,9) Bcl-2 ile negatif boyanma gösterirken, geriye kalanlarda değişen oranlarda pozitif boyanma izlendi (Resim 18).

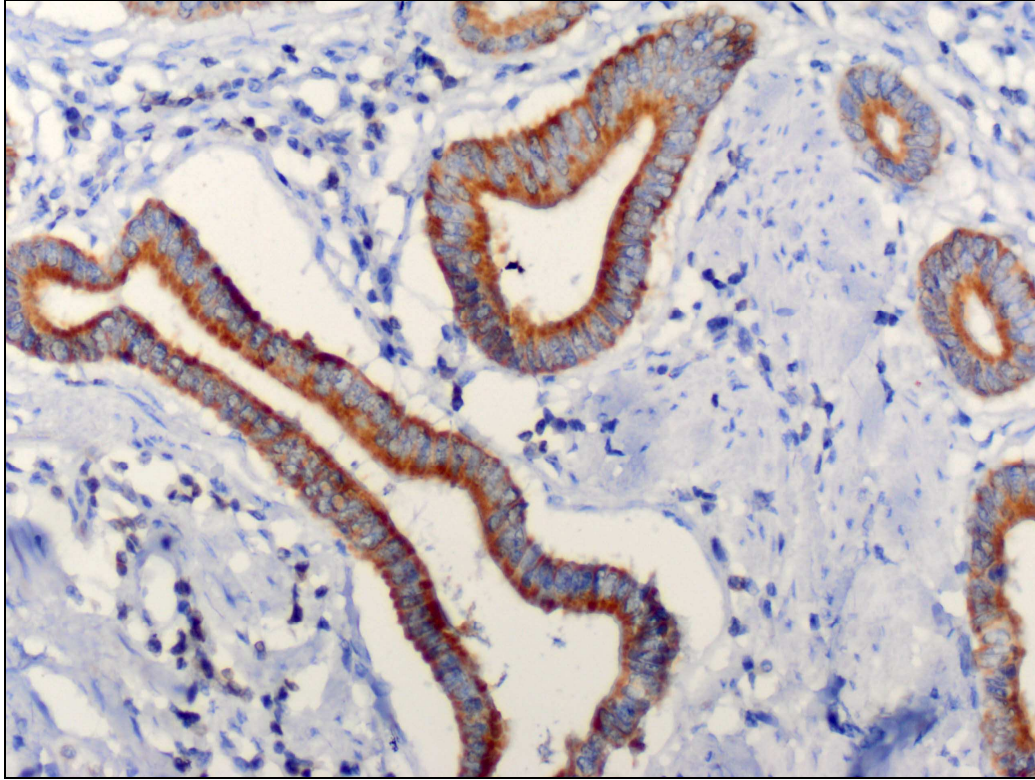
Tanı gruplarına göre Bcl-2 boyanma oranları Tablo 17'de gösterildi.



Resim 16. İntestinal metaplazi alanlarında Bcl-2 pozitifliği (x20)



Resim 17. Displastik mide epitelinde Bcl-2 pozitifliği (x20)



Resim18. İntestinal tip mide karsinomunda Bcl-2 pozitifliği (x40)

Tablo 17. Tanı gruplarına göre Bcl-2 boyanma oranları

TANI GRUPLARI	BOYANMA SKORU				POZİTİFLİK ORANI (%)
	0	1	2	3	
Karsinom (n=53)	45	3	3	2	15,1
Displazi (n=8)	5	1	2	0	37,5
İntestinal metaplazi (n=32)	18	14			43,7
Normal mide mukozası (n=56)	12	44			78,6

Buna göre Bcl-2, normal mide mukoza örneklerinin çoğunda (% 78,6) pozitif boyanma gösterirken, karsinom, displazi ve intestinal metaplazi olgularının ise yarısından azında pozitif boyanma göstermekteydi. Karsinom ile intestinal metaplazi ($p=0,028$), karsinom ile normal mide mukozası ($p<0,001$) ve intestinal metaplazi ile normal mide mukozası ($p=0,001$) arasında, Bcl-2'nin pozitif ve negatif boyanması açısından istatistiksel anlamlı fark bulundu. Ayrıca Bcl-2 ekspresyon skoru açısından, normal mide

mukozası ile karsinom ($p<0,001$), normal mide mukozası ile intestinal metaplazi ($p=0,035$) arasında da istatistiksel anlamlı fark bulundu.

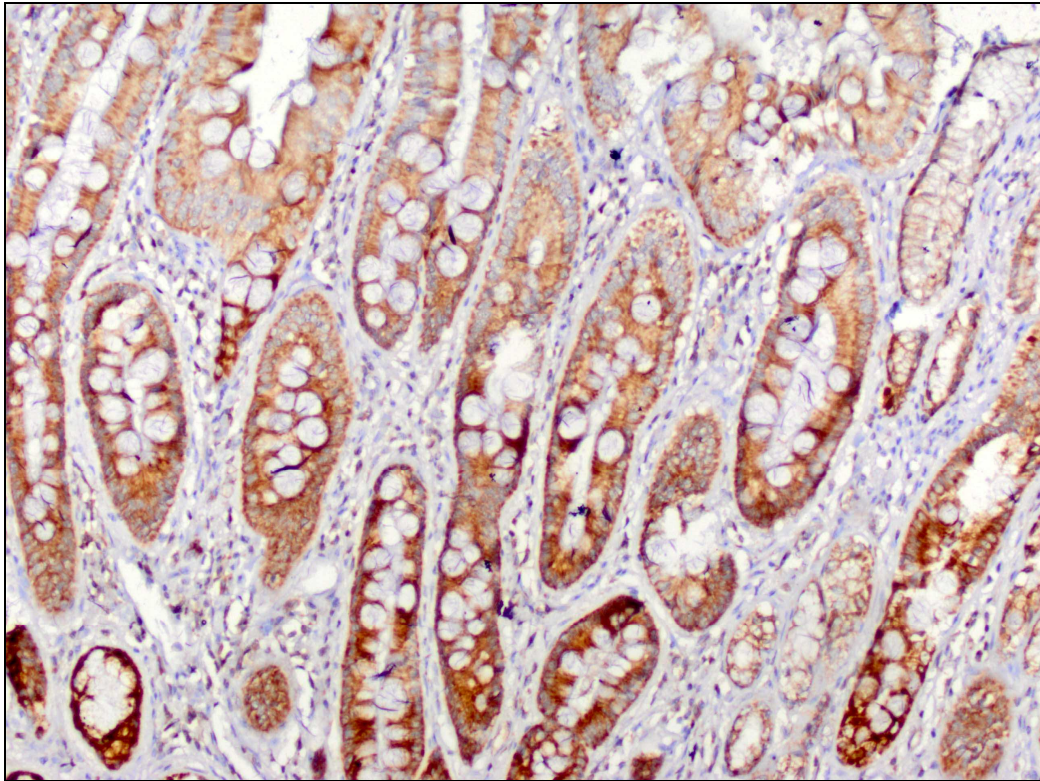
Normal mide mukozasına ait 56 olgunun 1'inde (%1,8) Bax ile negatif boyanma, 55'inde (%98,2) ise pozitif boyanma görüldü.

Değerlendirmeye alınan 32 intestinal metaplazi olgusunun sadece 1'inde (%3,2) Bax ile negatiflik saptanırken, geri kalan 31 (%96,8) olguda ise pozitiflik saptandı (Resim 19).

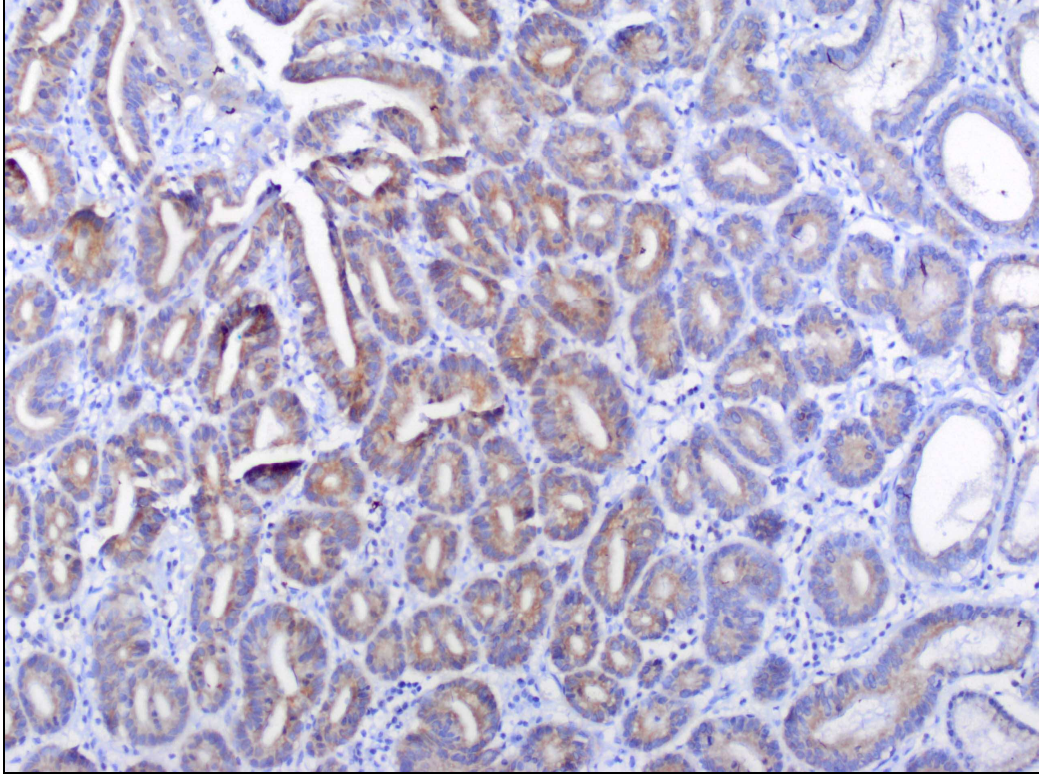
8 adet displazi olgusunun 3'ünde (%4,7) Bax ile boyanma gözlenmedi. 3'ünde (%4,7) ılımlı pozitif boyanma, 2'sinde (%3,1) ise güçlü pozitif boyanma izlendi (Resim 20).

İmmünohistokimya uygulanan 53 mide karsinomu olgusunun 4'ü (%7,5) Bax ile negatif boyanma gösterirken, 9'u (%17) zayıf pozitif, 7'si (%13,2) ılımlı pozitif, 33'ü (%62,3) ise güçlü pozitif boyanma gösterdi (Resim 21,22).

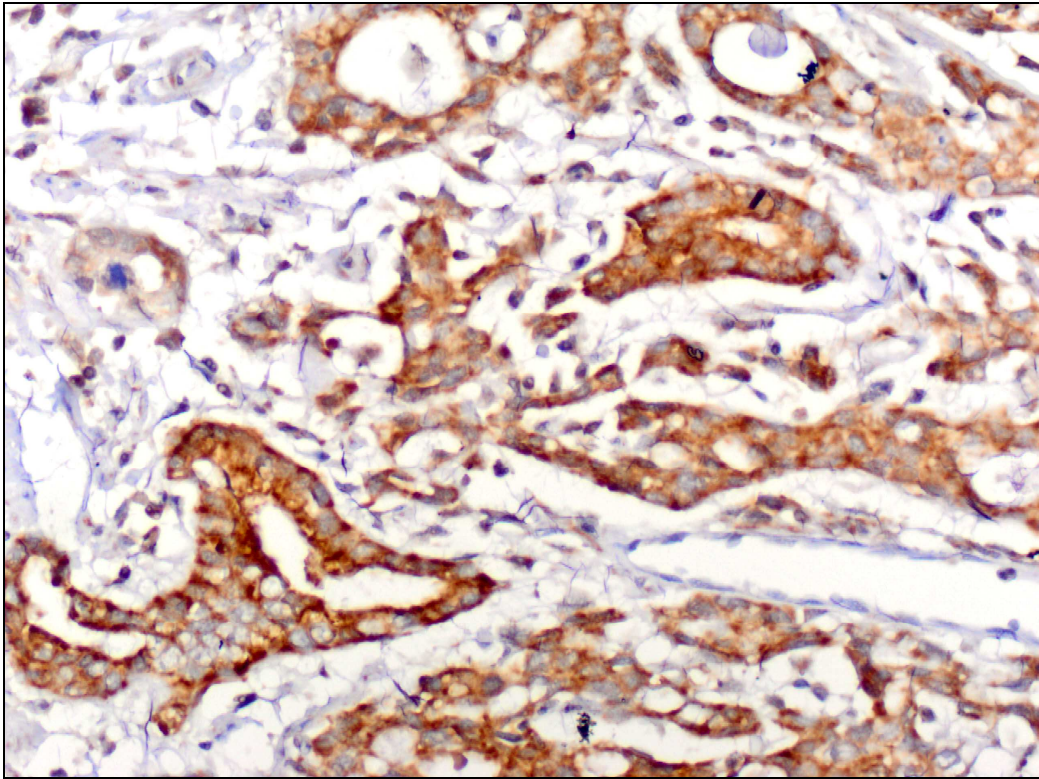
Tanı gruplarına göre Bax boyanma oranları Tablo 18'de gösterildi.



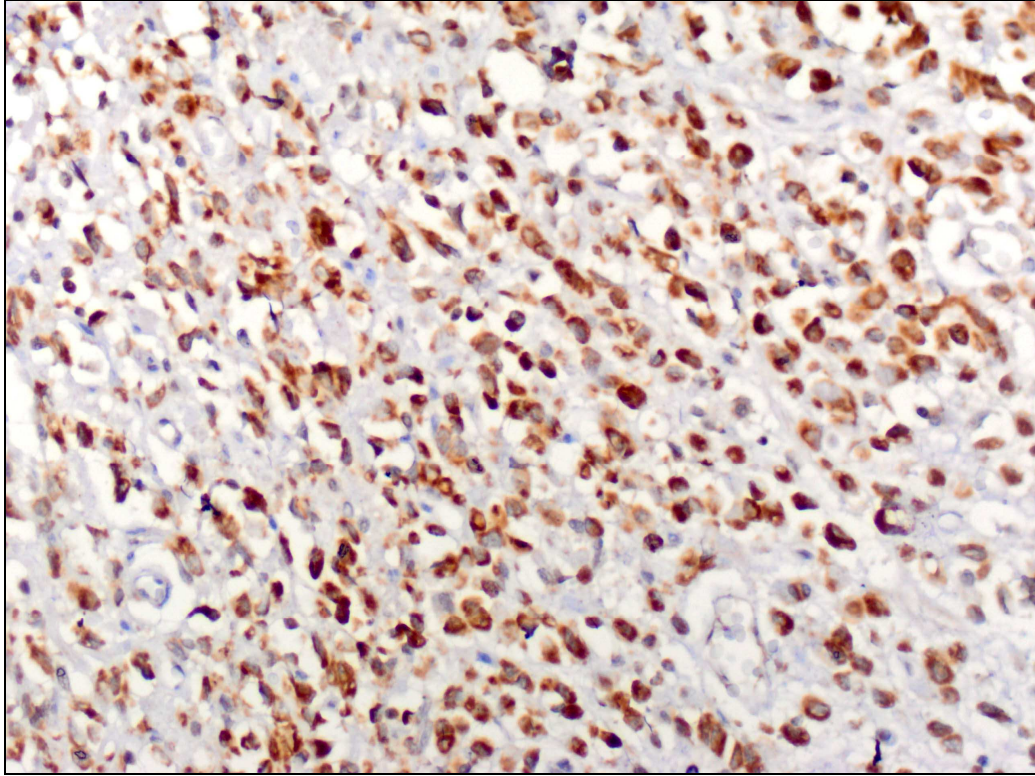
Resim 19. İntestinal metaplazi alanlarında Bax pozitifliği (x20)



Resim 20. Displastik mide epitelinde Bax pozitifliği (x20)



Resim 21. İntestinal tip mide karsinomunda Bax pozitifliği (x40)



Resim 22. Diffüz tip mide karsinomunda Bax pozitifliği (x40)

Tablo 18. Tanı gruplarına göre Bax boyanma oranları

TANI GRUPLARI	BOYANMA SKORU				POZİTİFLİK ORANI (%50 üstü)
	0	1	2	3	
Karsinom (n=53)	4	9	7	33	62,2
Displazi (n=8)	3	0	3	2	25
İntestinal metaplazi (n=32)	1	31			96,8
Normal mide mukozası (n=56)	1	55			98,2

Buna göre karsinom ile displazi ($p=0,012$), karsinom ile intestinal metaplazi ($p<0,001$), karsinom ile normal mide mukozası ($p<0,001$) arasında Bax'ın %50 üstü ve %50 altı boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

Çalışmada kullanılan tüm immunohistokimyasal belirleyicilerin incelenen dört olgu grubundaki boyanma oranları Tablo 19'da gösterildi.

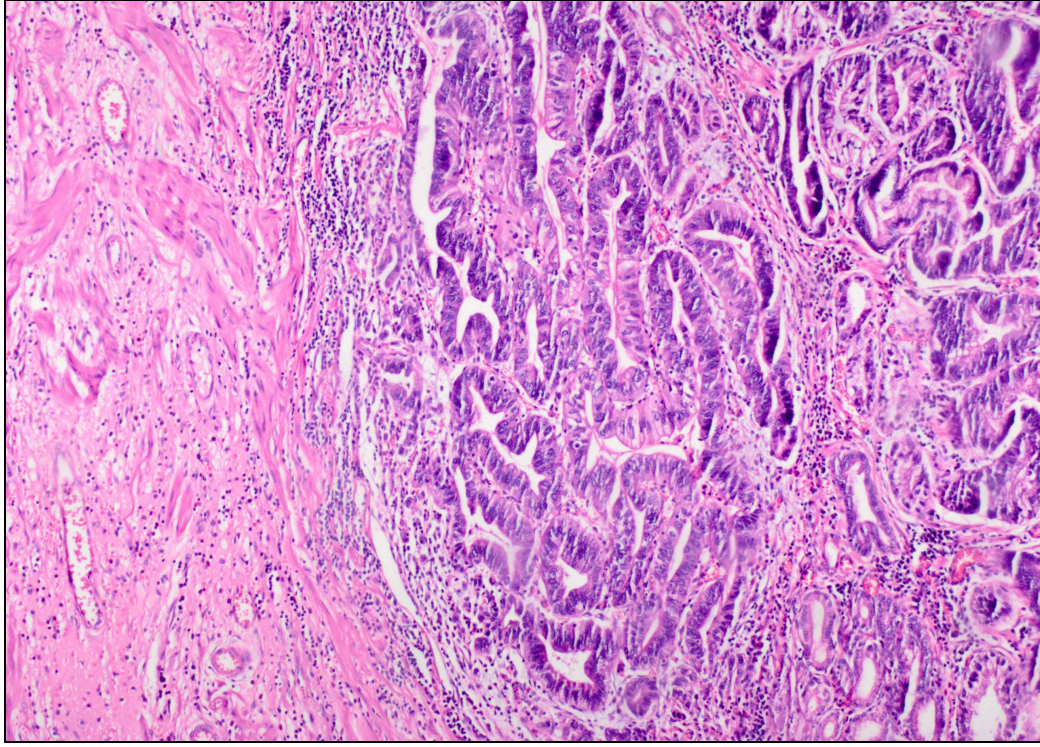
Tablo 19. Tanı grupları arasında immünohistokimyasal sonuçların karşılaştırılması

İmmun belirleyiciler	Karsinomda pozitiflik	Displazide pozitiflik	İntestinal metaplazide Pozitiflik	Normal mide mukozasında Pozitiflik
Maspin	%56,6	%37,5	%83,9	%100
C0X-2	%94,3	%100	%100	%100
VEGF	%26,4	%50	%41,9	%83,9
Bcl-2	%15,1	%47,5	%41,9	%78,6
Bax	%92,5	%62,5	%96,8	%98,2

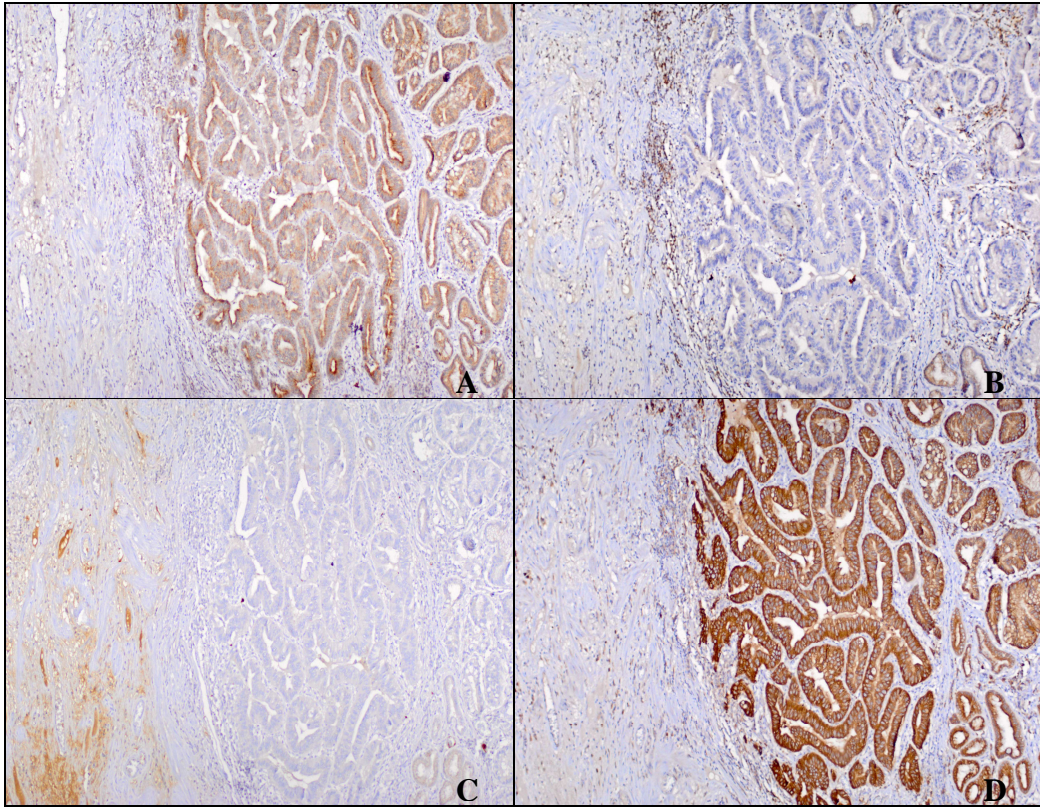
Karsinom olgularında, maspin ile VEGF (PKT, P=0,029), maspin ile Bcl-2 (PKT, p<0,001), VEGF ile Bcl-2 (PKT, p=0,002), VEGF ile Bax (PKT, p=0,015) arasında pozitif korelasyon saptanırken diğer immünohistokimyasal boyalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Ayrıca displazi ve intestinal metaplazi olgularında, çalışmada değerlendirilen immün belirleyiciler arasındaki ilişkiler açısından istatistiksel anlamlı fark izlenmedi. Erken evre mide karsinomları ayrı bir grup olarak ele alındığında immün belirleyiciler açısından anlamlı bir ilişki gözlenmedi (Resim 23,24).

Aynı şekilde, lenf nodu metastazı ve invazyon derinliği ile hiçbir immün belirleyici arasında istatistiksel bir ilişki saptanmadı.



Resim 23. Erken evre mide karsinomu (HE, x20)



Resim 24. Erken evre mide karsinomunda immunohistokimya (x20)

A: Bax, B: Bcl-2, C: VEGF, D: COX-2

TARTIŞMA

Mide kanserleri, kanserden ölüm sebepleri içerisinde halen dünyada önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle mide karsinomlarının etyoloji ve patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamak ve sonuçta yeni korunma ve tedavi protokolleri geliştirmek için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

Kelley ve ark.'nın mide kanserinin etyolojisiyle ilgili yaptıkları kapsamlı bir çalışmada, hastaların büyük çoğunluğunu 50 yaş ve üzeri erkeklerin oluşturduğu görülmüştür (1). Ayrıca intestinal tip mide karsinomlarının ileri yaşlarda ve erkeklerde daha sık görüldüğü, diffüz tip karsinoma ise daha çok gençlerde rastlandığı ancak cinsiyetler arası fark izlenmediği saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da karsinom olgularının %57,1'i erkek, %42,9'u ise kadın hastalar olup, karsinom insidansı yaş ile birlikte giderek artmakta ve en büyük olgu grubunu 70 yaş ve üzeri (%35,7) hastalar oluşturmaktaydı. Buna karşılık hem intestinal, hem de diffüz tip karsinomlarda erkek cinsiyetin hakim olduğu dikkati çekti. İntestinal tip karsinom insidansı altıncı ve yedinci onyıllarda artış gösterirken, diffüz tipte istatistiksel olarak böyle bir ilişki saptanmadı. Bu sonuçlara göre, mide karsinomlarında yaş ve cinsiyet dağılımıyla ilgili genel olarak literatürle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Demografik verilerle ilgili farklılık gösteren özellikler ise, olgu grubunda diffüz tipte mide karsinomunun genç yaş grubuna sınırlı olmayıp, tüm yaşlara dağılım göstermesi ve erkeklerde daha sık görülmesidir.

Literatürde erken mide karsinomu olan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımlarının, mide karsinomlarındaki genel özelliklerle benzer olduğu gösterilmiştir (7). Çalışmamızda ise erken mide karsinomu olan olgu sayısının az olması nedeniyle (7 olgu), bu olguların yaş ve cinsiyet dağılımları konusunda istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.

Lauwers'in makalesinde, mide adenokarsinomlarının çoğunun antrum ve antro-piloric bölgede, sıklıkla da küçük kurvaturda yerleşim gösterdiği ve sadece %15 kadarının 10 cm'in üzerinde olduğu bildirilmiştir (5). Bizim çalışmamızda da olguların %71,4'ü antrum yerleşimliydi. Tümör çapları 0,3 ile 15 cm arasında değişmekte olup, en büyük olgu grubunu 5-10 cm arası tümörler oluşturmaktaydı. 10 cm'den büyük tümörler olguların sadece %10,7'sini oluşturmaktaydı. Wang ve ark. tümör çapı ile lenf nodu tutulumu ve invazyon derinliğinin belirgin olarak ilişkili olduğunu göstermişlerdir (53). Ancak tümör çapı, halen mide kanserlerinin prognostik faktörleri arasında genel kabul görmemiştir. Çalışmamız bu konuya katkıda bulunan önemli veriler içermektedir. Bizim çalışmamızda tümör çapı ile lenf nodu tutulumu ve tümör çapı ile invazyon derinliği arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. Bu sonuç bize, mide karsinomlu hastalar için tümör boyutunun önemli bir bağımsız prognostik faktör olduğunu ve mide karsinomunun tedavisinin planlanmasında bu konuya gereken önemin verilmesi gerektiğini göstermiştir.

Özellikle intestinal tip mide karsinomlarında olmak üzere, mide kanseri riskinin intestinal metaplazinin yaygınlığı ile de orantılı olduğunu gösteren çalışmalar vardır (6). Diffüz tip mide karsinomlarında ise böyle bir ilişki bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda 56 adet karsinom olgusunun 32'sinde eşzamanlı intestinal metaplazi de bulunmaktaydı. Bu olguların % 53,1'i intestinal tip karsinom olgularıydı. Bu bulgularla, intestinal metaplazinin intestinal tip mide karsinomları için prekürsör bir lezyon olduğu, diğer histolojik tiplerin ise farklı mekanizmalar yoluyla ortaya çıktıkları söylenebilir. Bu nedenle çalışmamız, intestinal metaplazi, displazi ve karsinomdan oluşan mide karsinogenez basamaklarını histopatolojik ve immunohistokimyasal veriler ışığında değerlendirmek üzere kurgulandı.

Mide karsinogenez basamaklarında rolü olan ve son yıllarda tümör gelişimini inhibe edici etkisiyle ilgili birçok çalışma yapılmış olan maspin, bizim çalışmamızın da temelini oluşturmaktaydı. Bu çalışmalardan biri olan Son ve ark.'nın yaptığı çalışmada, immunohistokimya kullanarak, 30 mide karsinomu olgusunda Maspin ekspresyonu üzerinde çalışılmıştır (24). Bu

çalışmada, histolojik tip dikkate alınmaksızın 27 mide karsinomu olgusu (%90) maspin ile güçlü boyanma göstermiştir. Bunlar içerisinde 13 intestinal tip adenokarsinomdan 11'i ve 16 diffüz tip adenokarsinomdan 15'i maspin ile pozitif boyanma göstermiştir. Lenf nodu metastazı olmayan mide adenokarsinomlarının tümünde (5 olgu) ve lenf nodu metastazı olan 25 mide adenokarsinomu olgusunun 22'sinde (%88) maspin ekspresyonu gözlenmiştir. Ancak bu çalışmada maspin ekspresyonu ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. 26 adet "İntestinal metaplazili mide epiteli" olgusunun tümü maspin ile diffüz ve güçlü sitoplazmik reaktivite gösterirken, 26 adet "normal mide epiteli" olgusunun sadece 8'i (%30,8), zayıf ve fokal reaktivite göstermiştir. Sonuçta maspinin ekspresyon düzeyinin "intestinal metaplazili mide epiteli"nde mide karsinomu olgularından daha fazla olması, maspinin intestinal metaplazi ile karsinom arasındaki karsinogenez basamaklarında rolü olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca mide karsinogenezi sırasında, bazı tetikleyici faktörlerin maspinin regülasyon mekanizmalarını harekete geçiriyor olabileceğini ve maspin ekspresyonunu başlatabileceğini ve böylece ekspresyon mekanizmaları iyi çalıştığında, maspinin bir tümör supresör olarak görev yapabileceğini bildirmişlerdir.

Benzer bir sonuca Yu ve ark. da 237 mide karsinomu, 23 normal mukoza, 38 intestinal metaplazi ve 42 adenom olgusundan oluşan bir seride maspin ekspresyonu üzerinde çalışarak ulaşmışlardır (3). Bu çalışmada, maspinin intestinal metaplazili bezlerde ve adenomlarda güçlü, normal mide mukozasında ve karsinomda ise zayıf ekspresyon gösterdiği dikkati çekmiştir. Yani maspin ekspresyonu intestinal metaplazi ve adenomdan, karsinom ve normal mukozaya doğru gidildikçe dereceli olarak düşüş göstermiştir. Aynı çalışmada maspin ekspresyonunun, mide karsinomlarında invazyon derinliği ve lenf nodu metastazı ile pozitif korele olduğu da gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, maspinin mide karsinomlarının biyolojik davranışına ışık tutabilecek bir belirleyici olabileceğini düşünmüşlerdir.

Wang ve ark. ise 182 normal mide mukozası, 69 displazi ve 113 mide karsinomu olgusunda maspin ekspresyonu üzerinde çalışmışlar ve kısmen

de olsa, maspin ekspresyonu konusunda farklı sonuçlara ulaşmışlardır (23). Bu çalışmada normal mukoza olgularının %79,8'i, displazi olgularının %75,4'ü, mide karsinomu olgularının ise %50,4'ü maspin ile pozitif boyanma göstermiştir. Maspin ekspresyonu normal mukozadan displazi ve karsinoma doğru dereceli olarak düşüş göstermiştir. Bu sonuçlar maspin ekspresyonundaki düşüşün, mide epitel hücrelerindeki malign değişimin göstergesi olabileceğini ve bunun mide karsinogenezinde geç moleküler bir olay olduğunu düşündürmüştür. Ek olarak diffüz tip karsinomların, intestinal tip karsinomlarla karşılaştırıldığında, maspin ekspresyonlarının daha az olduğu görülmüştür. Bu da, diffüz ve intestinal tip karsinomlarda tümör gelişim yollarının farklı olduğunu ve maspin ekspresyonunun azalmasının, tümör hücrelerinin adezyon ve mobilitelerini etkilediğini düşündürmüştür. Aynı çalışmada maspin ekspresyonunun, tümörün invazyon derinliği ve lenf nodu metastazı ile negatif korele olduğu gösterilmiştir. Bu da maspinin mide karsinomunun gelişimindeki inhibitör etkisini gösterir.

Bizim çalışmamızda da Wang ve ark.'nın (23) çalışmalarına yakın sonuçlar elde edilmiştir. Biz 53 mide karsinomu olgusunda maspin ekspresyonunu değerlendirdik ve histolojik tip dikkate alınmaksızın 17 olguda düşük ekspresyon, 13 olguda ise yüksek ekspresyon şeklinde toplam 30 (% 56,6) olguda pozitiflik saptadık. Çalışmamıza alınan 32 adet "intestinal metaplazili mide epiteli" olgusunun 27'si (%83,9) maspin ile yüksek ekspresyon şeklinde boyanma gösterirken, 56 adet "normal mide epiteli" olgusunun tamamında maspin ile güçlü boyanma izlendi. Bizim çalışmamızda maspinin ekspresyon düzeyi, "intestinal metaplazili mide epiteli"nde ve "normal mide epiteli"nde mide karsinomu olgularından daha yüksekti. Bu sonuçlar bize, maspinin normal mide mukozasında eksprese edilen bir protein olduğunu, normal mide mukozasından karsinoma doğru ilerledikçe ekspresyonunun düştüğünü ve bu nedenle maspinin tümör supresör etkisi olduğunu düşündürmüştür. Diğer çalışmalarda da bu etki gözlenmekle birlikte, mide karsinomlarında maspin ekspresyonu ile ilgili farklı sonuçlar elde edilmesinin sebebi, immunohistokimyasal değerlendirme sırasında belirlenen sınır değerlerindeki farklılıklar olabilir.

Çalışmamızdaki 14 diffüz tip mide karsinomunun 4'ü, 27 intestinal tip mide karsinomunun ise 19'u maspin ile pozitif boyanma göstermiştir. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde de, intestinal tip karsinomlarda maspin ekspresyonunun daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuç maspinin intestinal metaplazi - intestinal karsinom sekansında rolü olduğu fikrini desteklemektedir. Maspinin bu basamaklardaki yerini vurgulamak açısından displazi olgularının da değerlendirilmesi kuşkusuz önem taşımaktadır. Çalışmamızdaki 8 adet displazi olgusunun 5'i maspin ile negatif, 3'ü ise pozitif boyanma göstermiştir. Ancak bu sayı displazi olgularındaki ekspresyonun değerlendirilmesi açısından yetersizdir. Bu nedenle mide karsinogenezinin anlaşılması için, ara basamaklardaki maspin ekspresyonunun daha geniş bir displazi serisinde çalışılması gereklidir.

Maspinin prognostik önemi açısından bakılacak olursa, lenf nodu metastazı olmayan 17 mide adenokarsinomunun 12'sinde ve lenf nodu metastazı olan 39 mide adenokarsinomunun 22'sinde maspin ekspresyonu gözlenmiş ancak maspin ekspresyonu ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca maspin ekspresyonu ile tümörün invazyon derinliği arasındaki ilişki de istatistiksel bir anlam taşımamaktadır. Bu bulgular, maspinin mide karsinogenez basamaklarında rolü olduğunu ancak mide karsinomunda prognostik bir faktör olarak değerlendirilemeyeceğini göstermiştir.

Maspinin anjiogenez ve apoptozis ile ilişkisini araştırmak üzere çalıştığımız immun belirleyicilerden olan COX-2'nin kanser gelişimindeki rolü çok sayıda çalışmada vurgulanmıştır ve COX-2 ekspresyonunun birçok malignitede arttığı görülmüştür (25-29). Literatürü destekler şekilde, bizim çalışmamızda da karsinom olgularının %94,3'ünde COX-2 ile pozitif boyanma saptanmıştır. Ancak çalışmamızda, mide karsinogenez basamaklarında yer aldığını düşündüğümüz intestinal metaplazi, displazi ve hatta normal mide mukozal örneklerinin büyük çoğunluğunda da güçlü ve seçici COX-2 ekspresyonu izlenmektedir. Bu nedenle COX-2'nin, karsinom gelişimini açıklamada ayırt edici bir özellik taşımadığı düşünülmüştür. Literatüre bakıldığında, mide karsinogenezini açıklayan çalışmaların büyük

bir kısmında, normal mide epitelinin COX-2 ile negatif boyandığı vurgulanmakla birlikte, yakın tarihli birkaç çalışmada normal mide mukozasında da pozitiflik görülmüştür (54). Normal mide mukozasının fizyolojik özellikleri göz önüne alındığında, mide mukozasının koruyucu mekanizmaları arasında yer alan PG sentezinde, araziidonik asit - PGE₂ dönüşümünü sağlayan enzim siklooksigenazdır ancak klasik olarak bu basamakta yer alan formu COX-1'dir. Literatürdeki genel verilerle çelişiyor olmakla birlikte, çalışmamızda normal mide mukozal örneklerinde izlediğimiz COX-2 pozitifliği, bize normal fizyolojik süreçlerde COX-2'nin de rol alıyor olabileceğini düşündürmüştür.

Samaka ve ark.'nın yaptığı çalışmada, mide karsinomlarındaki COX-2 ekspresyonunun, tümörün invazyon derecesi, lenf nodu tutulumu ve tümörün ileri evrede olmasıyla yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir (33). Murata ve ark. ise mide karsinomlarındaki COX-2 ekspresyonunun, lenfatik ve mide duvarı invazyonuyla ve lenf nodu metastazı ile korele olduğunu fakat tümörün histopatolojik derecesi ve ven tutulumu ile ilişkili olmadığını göstermişlerdir (34). Çalışmamızda Samaka ve Murata'nın çalışmalarından farklı olarak COX-2 ekspresyonu ile tümör invazyonu ve lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ayrıca intestinal ve diffüz tip karsinomlar arasında COX-2 ekspresyonu açısından fark izlenmemiştir. Bu bulgularla COX-2 ekspresyonunun mide karsinomunun prognozunun değerlendirilmesindeki rolü tartışmalıdır.

Tümör gelişiminde anjiogenezin tartışılmaz bir rolü vardır. VEGF anjiogenezini uyararak malign tümörlerin gelişimi ve metastazı üzerinde etkili olur (45). Li ve ark. yaptıkları çalışmada, mide karsinomlarının %76.7'sinin VEGF ile pozitif boyanma gösterdiğini ve bu oranın "normal mide epiteli"nin boyanma yüzdesinden fazla olduğunu göstermişlerdir (55). Ek olarak Bolat ve ark. çalışmalarında, VEGFA'nın ekspresyonunun tümörün derecesi ve hastalıktan bağımsız sağkalım oranları ile pozitif korele olduğunu, VEGFC ve VEGFD'nin ise tümör hücrelerinin invazyon yeteneklerini artırıp erken evrede tümör hücre metastazını kolaylaştırdığını göstermişlerdir (36). VEGFC ekspresyonunun tümörün lenf nodu tutulumu ile ilişkili olduğunu gösteren

başka çalışmalar da vardır (56). Bu bulgular VEGFC üreten kanser hücrelerinin, lenfatik damarların proliferasyonu ve dilatasyonunu indüklediği ve tümörün lenfatik invazyon ve lenf nodu tutulumu yapmasını kolaylaştırdığını göstermiştir. Literatürden farklı olarak bizim çalışmamızda, karsinom olgularının %26,4'ü VEGF ile pozitif boyanma gösterirken, "normal mide epitel" grubunda olguların %83,9'unda pozitiflik izlendi. Ayrıca çalışmamızda VEGF ekspresyonunun lenf nodu metastazı ile korele olmadığı bulundu. Ancak pozitiflik gösteren olgularımızın tamamında zayıf bir immunoreaktivite söz konusuydu ve VEGF ekspresyonu ile ilgili olarak primer antikordan veya immunohistokimyasal yöntemden kaynaklanan bir yetersizlik olduğu düşünüldü.

Son yıllarda apoptozis ve apoptozis regülasyonunun doku hemostazı ve karsinogenezdeki rolü üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Liu ve ark. yaptıkları çalışmada 50 mide karsinomu olgusunda Bcl-2 proteininin ekspresyonunu değerlendirmişler ve olguların %82'sinde tümör hücrelerinin Bcl-2 proteini ile pozitif boyanma gösterdiğini saptamışlardır (57). Bu çalışmanın devamı olarak yapılan ve Bax proteininin mide karsinomlarındaki immunoreaktivitesinin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise, 57 mide karsinomu olgusunun 33'ünde (%57,89) Bax ile pozitif boyanma elde edilmiştir (58). Her iki çalışmada da, immun belirleyicilerin ekspresyon düzeyleri ile mide karsinomlarının diferansiyasyon derecesi ve morfolojik fenotipi arasındaki ilişki değerlendirilmeye alınmıştır. Buna göre, intestinal ve diffüz tip mide karsinomları arasındaki Bcl-2 ve Bax ekspresyonları değerlendirildiğinde, hem Bcl-2 hem de Bax ekspresyonunun intestinal tip mide karsinomlarının gelişimi ile ilişkili olduğu görülmüş, sonuç olarak da iki morfolojik tipin gelişiminde farklı biyolojik mekanizmaların rol aldığı düşünülmüştür. Ayrıca Bcl-2 ve Bax proteinlerinin ekspresyon düzeyleri ile tümör çapı, lenf nodu metastazı ve serozal invazyon arasında da anlamlı ilişki bulunamamış ve bu proteinlerin ekspresyonlarının tümör progresyonu ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir.

Başka bir çalışmada, 100 mide adenokarsinomu ve 41 mide adenomu üzerinde, Bcl-2 ve Bax ekspresyonları değerlendirilmiş ve Bcl-2 ekspresyon

düzeyinin adenomlarda (%34,2), adenokarsinomlardan (%2) daha fazla olduğu; Bax ekspresyon düzeyinin ise adenokarsinomlarda (%58), adenomlardan (%14,6) daha fazla olduğu saptanmıştır (59). Sonuç olarak, Bax ekspresyonu, adenokarsinom gelişimi, tümörün invazyon derinliği ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunmuştur.

Anagnostopoulos ve ark. 47 mide karsinomu olgusunda Bax ekspresyonunu değerlendirmişler ve 20'sinde (%42,4) pozitif Bax immunoreaktivitesi saptamışlardır (52). Sonuçta mide karsinomlarında Bax'ın negatif ekspresyonunun, tümörün dediferansiyasyonu, lenf nodu metastazı ve kötü prognozuyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda ise, Lee ve ark.'nın (59) bulgularına benzer şekilde, mide karsinomu olgularının %15,1'i, displazi olgularının ise %37,5'i Bcl-2 ile pozitif ekspresyon gösterirken, karsinom ve displazi olgularındaki Bax ekspresyon oranları sırasıyla %75,5 ve %62,5 olarak saptanmıştır. Ayrıca çalışmamızda, Bax ve Bcl-2 ekspresyonları ile tümörün histolojik tipi, lenf nodu metastazı ve invazyon derinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Literatürde mide karsinomlarında Bax'ın ekspresyonuyla ilişkili benzer sonuçlar bildirilmesine rağmen, Bcl-2 ekspresyon düzeyleri kaynaklar arası farklılıklar göstermektedir. Ayrıca Bax ve Bcl-2'nin mide karsinomlarının prognozu üzerindeki etkileriyle ilgili olarak da farklı sonuçlar bildirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen veriler literatürle birlikte yorumlandığında, mide karsinomlarında Bax protein ekspresyonunun, karsinogenezde önemli bir rol oynadığı ancak prognostik parametreler üzerinde etkisi olmadığı düşünülmüştür.

Birçok kanserde, antiapoptotik proteinler Bcl-X_L ve Bcl-2'nin overekspresyonu görülürken, proapoptotik Bax aktivitesi uzun sağkalımla ilişkilendirilmiştir (60). Bizim çalışmamızda ise karsinom olgularında, apoptozisi kontrol eden Bcl-2 ailesi üyeleri olan Bax ve Bcl-2'nin ekspresyonları arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Maspinin etki mekanizmalarından biri de tümör hücrelerinde apoptozis ile ilişkili Bcl-2 ailesi proteinlerinin düzeyini değiştirmesidir (61). Liu ve ark.

çalışmalarında, maspinin apoptozise duyarlılaştırıcı etkisinin, apoptozis tetikleyicilerinden bağımsız olarak, Bax ekspresyonu ve aktivitesinin artışı sonucu oluştuğunu hücrenel, moleküler ve biyokimyasal olarak göstermişlerdir (62). Çalışmamızda ise karsinom olgularında maspin ile Bax ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Çalışmamızda yer alan tüm veriler birlikte yorumlandığında maspinin, normal mide mukozası, intestinal metaplazi, displazi ve karsinomdan oluşan, mide karsinogenez basamaklarında önemli bir rolü olduğu sonucuna varılmıştır. Ek olarak, maspin immunoreaktivitesinin değerlendirilmesinde, ekspresyonun derecesinin değil, pozitif veya negatifliğinin daha anlamlı olduğu düşünülmüştür. Ancak maspinin mide karsinogenezinde anjiogenez ve apoptozis gibi etki mekanizmalarıyla ilgili yorum yapmamızı sağlayacak yeterli veri elde edilememiştir. Yapılan tüm çalışmalarda intestinal metaplazi alanlarının maspin ile çok büyük oranda pozitif boyanması ilgi çekicidir ve bu konu üzerinde daha ayrıntılı çalışmalar yapılmalıdır. Ayrıca maspin geni ve onun kodladığı proteinin mide karsinomlarının progresyonundaki rolü de daha geniş olgu serileri ile çalışılmaya değer bir konudur.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, maspin ekspresyonunun karsinom ve displazide, intestinal metaplazi ve normal mide mukozasına göre daha az olduğu görülmüştür. Ayrıca intestinal ve diffüz tip karsinomlar, maspin ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında, intestinal tipte maspin pozitifliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar bize maspinin, özellikle intestinal tip mide karsinomlarında olmak üzere, mide karsinogenezinde önemli bir rolü olduğunu göstermiştir. Maspin ekspresyonu tümör çapı, lenf nodu metastazı ve tümörün invazyon derinliği gibi pronostik faktörlerle karşılaştırıldığında ise anlamlı ilişki saptanamamış ve maspinin tümör progresyonundaki etkisi açıklanamamıştır.

Çalışmamızda mide karsinogenez basamaklarında yer aldığını düşündüğümüz normal mide mukozası, intestinal metaplazi, displazi ve karsinom örneklerinin büyük çoğunluğunda güçlü ve seçici COX-2 ekspresyonu izlenmesinden dolayı COX-2'nin, karsinom gelişimini açıklamada ayırt edici bir özellik taşımadığı düşünülmüştür. Literatürdeki genel verilerle çelişiyor olmakla birlikte, çalışmamızda normal mide mukozal örneklerinde izlediğimiz COX-2 pozitifliği, bize normal fizyolojik süreçlerde COX-2'nin de rol alıyor olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda VEGF ile pozitiflik gösteren olgularımızın tamamında zayıf bir immunoreaktivite söz konusu olmasından dolayı bu boyanmayla ilgili olarak primer antikordan veya immunohistokimyasal yöntemden kaynaklanan bir yetersizlik olduğu düşünülmüş ve maspin ile ilişkisi açıklanamamıştır.

Çalışmamızda elde edilen veriler literatürle birlikte yorumlandığında, mide karsinomlarında Bax protein ekspresyonunun, karsinogenezde önemli bir rol oynadığı ancak prognostik parametreler üzerinde etkisi olmadığı düşünülmüştür.

Çalışmamızda, maspinin mide karsinogenezinde anjiogenez ve apoptoz gibi etki mekanizmalarıyla ilgili yorum yapmamızı sağlayacak yeterli veri elde edilememiş olmasına rağmen, mide karsinogenez basamaklarında önemli bir rolü olduğu sonucuna varılmıştır. Ek olarak, maspin immunoreaktivitesinin değerlendirilmesinde, ekspresyonun derecesinin değil, pozitif veya negatifliğinin daha anlamlı olduğu düşünülmüştür. Bir çok çalışmada olduğu gibi, bizim çalışmamızda da intestinal metaplazi olguları maspin ile çok büyük oranda pozitif boyanmış olup, bu konu üzerinde çalışılmaya değerdir. Ayrıca maspinin mide karsinomlarının progresyonundaki rolünü açıklayacak çalışmaların, daha geniş serilerde sürdürülmesi gereklidir.

ÖZET

Bu çalışma, normal mide mukozası, intestinal metaplazi, displazi ve karsinomdan oluşan mide karsinogenez basamaklarında, bir tümör supresör olarak görev yaptığı düşünülen maspinin etki mekanizmasını araştırmak üzere planlanmıştır. Bu yönde neoanjiogenez üzerindeki etkisinin belirlenmesi için, VEGF ve COX-2 ile, apoptoz üzerindeki etkisinin belirlenmesi için ise antiapoptotik Bcl-2 ve proapoptotik Bax proteinleri eşliğinde değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda 56'sı mide karsinomu, 8'i displazi, 35'i intestinal metaplazi tanısı almış toplam 64 olguya ait kesitlere maspin, COX-2, VEGF, Bcl-2 ve Bax immunbelirleyicileri uygulanmıştır. Tümör hücrelerinin bu antikorlarla boyanma oranları saptanarak birbirleriyle karşılaştırılmış; her bir antikor ise kendi içinde karsinom, displazi, intestinal metaplazi ve normal mide mukozası alanlarındaki boyanma oranları açısından değerlendirilmiştir.

Demografik verilerle ilgili farklılık gösteren özellikler, olgu grubunda diffüz tipte mide karsinomunun genç yaş grubuna sınırlı olmayıp, tüm yaşlara dağılım göstermesi ve erkeklerde daha sık görülmesidir. Ayrıca çalışmamızda tümör çapı ile lenf nodu tutulumu ve tümör çapı ile invazyon derinliği arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır.

İmmunohistokimyasal olarak, maspin ekspresyonunun karsinom ve displazide, intestinal metaplazi ve normal mide mukozasına göre daha az olduğu görülmüştür. Ayrıca intestinal tipte mide karsinomunda, maspin pozitifliğinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar bize maspinin normal mide mukozasında eksprese edilen bir protein olduğunu, normal mide mukozasından karsinoma doğru ilerledikçe ekspresyonunun düştüğünü ve bu nedenle maspinin tümör supresör etkisi olduğunu düşündürmüştür. Maspin ekspresyonu tümör çapı, lenf nodu metastazı ve tümörün invazyon derinliği

gibi pronostik faktörlerle karşılaştırıldığında ise anlamlı ilişki saptanamamış ve maspinin tümör progresyonundaki etkisi belirlenememiştir.

Çalışmamızda, normal mide mukozası, intestinal metaplazi, displazi ve karsinom örneklerinin büyük çoğunluğunda güçlü ve seçici COX-2 ekspresyonu izlenmesinden dolayı COX-2'nin, karsinom gelişimini açıklamada ayırt edici bir özellik taşımadığı düşünülmüştür. Ayrıca normal mide mukozal örneklerinde izlediğimiz COX-2 pozitifliği, bize normal fizyolojik süreçlerde COX-2'nin de rol alıyor olabileceğini düşündürmüştür. Elde edilen veriler literatürle birlikte yorumlandığında, mide karsinomlarında Bax protein ekspresyonunun, karsinogenezde önemli bir rol oynadığı ancak prognostik parametreler üzerinde etkisi olmadığı düşünülmüştür. Çalışmamızda VEGF ekspresyonu ile ilgili olarak primer antikordan veya immunohistokimyasal yöntemden kaynaklanan bir yetersizlik olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sebeple elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir.

Bu bulgularla, maspinin mide karsinogenezinde anjiogenez ve apoptoz gibi etki mekanizmalarıyla ilgili yorum yapmamızı sağlayacak yeterli veri elde edilememiş olmasına rağmen, mide karsinogenez basamaklarında önemli bir rolü olduğu sonucuna varılmıştır. Ek olarak, maspin immunoreaktivitesinin değerlendirilmesinde, ekspresyonun derecesinin değil, pozitif veya negatifliğinin daha anlamlı olduğu düşünülmüştür.

SUMMARY

This study has been arranged in order to investigate the mechanism of maspin's effect which is supposed to serve as tumour suppressor, on gastric carcinogenesis stages composed of normal gastric mucosa, intestinal metaplasia, dysplasia and carcinoma. It is evaluated together with the staining of VEGF and COX-2 in order to determine its effect on neoangiogenesis, and for its effect on apoptosis, antiapoptotic Bcl-2 and proapoptotic Bax proteins have been used.

Maspin, COX-2, VEGF, Bcl-2 and Bax antibodies have been applied to the tissue sections from 64 cases which have diagnosed gastric carcinoma (n=56), dysplasia (n=8), and intestinal metaplasia (n=35). The staining intensity of tumour cells with these antibodies have been compared to each other; and each antibody has been evaluated in terms of their staining intensity on carcinoma, dysplasia, intestinal metaplasia and normal gastric mucosa.

Regarding the demographical data, the detection of the diffuse type gastric carcinoma especially in males and in all ages, not only in young age were remarkable features. It is also noted in our study that there is positive correlation between the tumour diameter and lymph node metastasis, and between the tumour diameter and invasion depth.

Immunohistochemically, it is also found out that maspin expression is less in carcinoma and dysplasia when compared with intestinal metaplasia and normal gastric mucosa. In addition, it is also determined that maspin positivity is higher in intestinal type gastric carcinoma. These results are stated that maspin is a protein expressed in normal gastric mucosa, and the expression is becoming less as it progressed from normal gastric mucosa to carcinoma and thus, maspin has a tumour suppressor effect. When maspin

expression is compared with prognostic factors such as tumour diameter, lymph node metastasis and invasion depth of tumour, no significant relation has been found and the effect of maspin on tumour progress is not determined.

Since strong and selective COX-2 expression has been found in most of normal gastric mucosa, intestinal metaplasia, dysplasia and carcinoma samples in our study, it is thought not to have discriminative characteristics to explain carcinoma progress. Besides, COX-2 positivity we observed in normal gastric mucosa samples considered that COX-2 is playing a role in normal physiologic processes. When these data has been interpreted with the literature, it is thought that Bax protein expression in gastric carcinoma has a significant role in carcinogenesis, but has no effect on prognostic parameters. In our study, regarding the VEGF expression, it is concluded that there is an insufficiency due to primary antibody or immunohistochemical method. Thus, the obtained diagnosis is not considered statistically significant.

With these findings, despite the insufficient data to comment on the mechanism of maspin's effect such as angiogenesis and apoptosis on gastric carcinogenesis, it is concluded that it has a significant role on the steps of gastric carcinogenesis. Additionally, it is mentioned that the positivity or negativity of maspin expression is more useful than scoring in evaluation of maspin immunoreactivity.

KAYNAKLAR

1. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol.* 2003 Jan;56(1):1-9.
2. Katakura H, Takenaka K, Nakagawa M, et al. Maspin gene expression is a significant prognostic factor in resected non-small cell lung cancer (NSCLC). *Maspin in NSCLC. Lung Cancer.* 2006 Mar;51(3):323-8.
3. Yu M, Zheng H, Tsuneyama K, et al. Paradoxical expression of maspin in gastric carcinomas: correlation with carcinogenesis and progression. *Hum Pathol.* 2007 Aug;38(8):1248-55.
4. Solomon LA, Munkarah AR, Schimp VL, et al. Maspin expression and localization impact on angiogenesis and prognosis in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2006 Jun;101(3):385-9.
5. Lauwers GY. Epithelial Neoplasms of the Stomach. In: Odze RD, Goldblum JR, Crawford JM, eds. *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas*, 1st ed. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders, 2004:409-413.
6. Fenoglio-Preiser C, Carneiro F, Correa P, et al. Gastric carcinoma. In: Hamilton SR and Aaltonen LA, eds. *WHO Pathology and Genetics Tumors of the Digestive System*, Lyon: IARC Press, 2000:37-67.
7. Ming SC, Hiroto T. Malignant epithelial tumors of the stomach. In: Ming SC, Goldman H, eds. *Pathology of the gastrointestinal tract*, 2nd ed. Philadelphia: Williams and Wilkins, 1998:607-647.
8. Liu C, Crawford JM. The Gastrointestinal Tract. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Pathologic Basis of Disease*, 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006: 797-876.
9. Figueiredo C, Van Doorn LJ, Nogueira C, et al. *Helicobacter pylori* genotypes are associated with clinical outcome in Portuguese patients

- and show a high prevalence of infections with multiple strains. *Scand J Gastroenterol.* 2001 Feb;36(2):128-35.
10. Schlemper RJ, Riddell RH, Kato Y, et al. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut.* 2000 Aug;47(2):251-5.
 11. Stolte M. The new Vienna classification of epithelial neoplasia of the gastrointestinal tract: advantages and disadvantages. *Virchows Arch.* 2003 Feb;442(2):99-106.
 12. Stolte M, Sticht T, Eidt S, et al. Frequency, location, and age and sex distribution of various types of gastric polyp. *Endoscopy* 1994;26: 659-665.
 13. Molly RM, Sonnenberg A. Relation between gastric cancer and previous peptic ulcer disease. *Gut* 1997;40:247-52.
 14. Parsonnet J. *Helicobacter pylori* in the stomach-a paradox unmasked. *N Engl J Med* 1996;335:278-80.
 15. Khalkhali-Ellis Z. Maspin: the new frontier. *Clin Cancer Res.* 2006 Dec 15;12(24):7279–7283.
 16. Bailey CM, Khalkhali-Ellis Z, Seftor EA, et al. Biological functions of maspin. *J Cell Physiol.* 2006 Dec;209(3):617–624.
 17. Sheng S. A role of novel serpin maspin in tumor progression: the divergence revealed through efforts to converge. *J Cell Physiol.* 2006 Dec;209(3):631–635.
 18. Smith SL, Watson SG, Ratschiller D, Gugger M, Betticher DC, Heighway J. Maspin - the most commonly-expressed gene of the 18q21.3 serpin cluster in lung cancer – is strongly expressed in reneoplastic bronchial lesions. *Oncogene.* 2003 Nov 27;22(54):8677–8687.
 19. Sood AK, Fletcher MS, Gruman LM, et al. The paradoxical expression of maspin in ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2002 Sep;8(9):2924–2932.
 20. Bailey CM, Khalkhali-Ellis Z, Kondo S, et al. Mammary serine protease inhibitor (Maspin) binds directly to interferon regulatory factor 6: identification of a novel serpin partnership. *J Biol Chem.* 2005 Oct 7;280(40):34210–34217.

21. Nakagawa M, Katakura H, Adachi M, et al. Maspin expression and its clinical significance in non-small cell lung cancer. *Ann Surg Oncol*. 2006 Nov;13(11):1517–1523.
22. Hirai K, Koizumi K, Haraguchi S, et al. Prognostic significance of the tumor suppressor gene maspin in non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg*. 2005 Jan;79(1):248–253.
23. Wang MC, Yang YM, Li XH, et al. Maspin expression and its clinicopathological significance in tumorigenesis and progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2004 Mar 1;10(5):634-7.
24. Son HJ, Sohn TS, Song SY, et al. Maspin expression in human gastric adenocarcinoma. *Pathol Int*. 2002 Aug;52(8):508-13.
25. DuBois RN, Abramson SB, Crofford L, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J* 1998; 12: 1063-73.
26. Joo YE, Kim HS, Min SW, et al. Expression of cyclooxygenase-2 protein in colorectal carcinomas. *Int J Gastrointest cancer* 2002; 31: 147-54.
27. Joo YE, Oh WT, Rew JS, et al. Cyclooxygenase-2 expression is associated with well-differentiated and intestinal type pathways in gastric carcinogenesis. *Digestion* 2002; 66: 222-9.
28. Thun MJ. NSAID use and decreased risk of gastrointestinal cancers. *Gastroenterol Clin North Am* 1996; 25: 333-48.
29. Ranger GS, Salhab M, Mokbel K. The role of cyclooxygenase-2 in breast cancer: review. *Breast Cancer Res Treat* 2007.
30. Vane J, Botting R. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflamm Res*. 1998, 47: S78-S87.
31. Hia T, Ristimaki A, Appleby S, et al. Cyclooxygenase gene expression in inflammation and angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 1993, 696: 197-204.
32. Joo YE, Rew JS, Seo YH, et al. Cyclooxygenase-2 over expression correlates with vascular endothelial growth factor expression and tumor angiogenesis in gastric cancer. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 28-33.
33. Samaka RM, Abdou AG, Abd El-Wahed MM, et al. Cyclooxygenase-2 expression in chronic gastritis and gastric carcinoma, correlation with prognostic parameters. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2006 Dec;18(4):363-74.

34. Murata H, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1999;94: 451-455
35. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989 Jun 15;161(2):851-8.
36. Bolat F, Gumurdulu D, Erkanli S ve ark. Maspin overexpression correlates with increased expression of vascular endothelial growth factors A, C, and D in human ovarian carcinoma. *Pathol Res Pract.* 2008;204(6):379-87.
37. Tian X, Song S, Wu J, et al. Vascular endothelial growth factor: acting as an autocrine growth factor for human gastric adenocarcinoma cell MGC803. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Aug 24;286(3):505-12.
38. Nagy JA, Benjamin L, Zeng H, et al. Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis. *Angiogenesis.* 2008;11(2):109-19.
39. Unemori EN, Ferrara N, Bauer EA, et al. Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenase expression in human endothelial cells. *J Cell Physiol.* 1992 Dec;153(3):557-62.
40. Shaheen RM, Davis DW, Liu W, et al. Antiangiogenic therapy targeting the tyrosine kinase receptor for vascular endothelial growth factor receptor inhibits the growth of colon cancer liver metastasis and induces tumor and endothelial cell apoptosis. *Cancer Res.* 1999 Nov 1;59(21):5412-6.
41. Lissoni P, Malugani F, Bonfanti A, et al. Abnormally enhanced blood concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF) in metastatic cancer patients and their relation to circulating dendritic cells, IL-12 and endothelin-1. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2001 Apr-Jun;15(2):140-4.
42. Konno H, Ohta M, Baba M, et al. The role of circulating IL-8 and VEGF protein in the progression of gastric cancer. *Cancer Sci.* 2003 Aug;94(8):735-40.
43. Tao H, Lin Y, Yin H, et al. Prognostic value of tumor vascularity in gastric carcinoma. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 1998 May;36(5):307-9.

44. Che X, Hokita S, Natsugoe S, et al. Tumor angiogenesis related to growth pattern and lymph node metastasis in early gastric cancer. *Chin Med J (Engl)*. 1998 Dec;111(12):1090-3.
45. Kabashima A, Maehara Y, Kakeji Y, et al. Overexpression of vascular endothelial growth factor C is related to lymphogenous metastasis in early gastric carcinoma. *Oncology*. 2001;60(2):146-50.
46. Knillová J, Kolár Z. The significance of key regulators of apoptosis in the development and prognosis of prostate carcinoma. I. Proteins of the Bcl-2 family and protein p53. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2003 Nov;147(1):3-10.
47. Konopleva M, Zhao S, Xie Z, et al. Apoptosis. Molecules and mechanisms. *Adv Exp Med Biol*. 1999;457:217-36.
48. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science*. 1998;281:1322-6.
49. Knudson CM, Korsmeyer SJ. Bcl-2 and Bax function independently to regulate cell death. *Nat Genet*. 1997;16:358-63
50. Hockenbery DM, Zutter M, Hickey W, et al. BCL2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Aug 15;88(16):6961-5.
51. Bronner MP, Culin C, Reed JC, et al. The Bcl-2 proto-oncogene and the gastrointestinal epithelial tumor progression model. *Am J Pathol*. 1995 Jan;146(1):20-6.
52. Anagnostopoulos GK, Stefanou D, Arkoumani E, et al. Expression of Bax protein in gastric carcinomas. A clinicopathological and immunohistochemical study. *Acta Gastroenterol Belg*. 2007 Jul-Sep;70(3):285-9.
53. Wang X, Wan F, Pan J, et al. Tumor size: a non-neglectable independent prognostic factor for gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2008 Mar 1;97(3):236-40.
54. Mao XY, Wang XG, Lv XJ, et al. COX-2 expression in gastric cancer and its relationship with angiogenesis using tissue microarray. *World J Gastroenterol*. 2007 Jul;13(25):3466-71.

55. Li JJ, Chen Y, Zhang SM, et al. Pathobiological significance of vascular endothelial growth factor and Maspin expressions in human gastric carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2004 Sep 15;10(18):2624-7.
56. Yonemura Y, Endo Y, Fujita H, et al. Role of vascular endothelial growth factor C expression in the development of lymph node metastasis in gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 1999 Jul;5(7):1823-9.
57. Liu HF, Liu WW, Fang DC, et al. Expression of Bcl-2 protein in gastric carcinoma and its significance. *World J Gastroenterol*. 1998 Jun;4(3):228-230.
58. Liu HF, Liu WW, Fang DC, et al. Expression and significance of proapoptotic gene Bax in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol*. 1999 Feb;5(1):15-17.
59. Lee DS, Kang SB, Baek JT, et al. Immunohistochemical expression of bcl-2, bcl-XL, bax, p53 proteins in gastric adenoma and adenocarcinoma. *Korean J Gastroenterol*. 2005 Jun;45(6):394-400.
60. Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*. 2001 May 17;411(6835):342-8.
61. Zhang W, Shi HY, Zhang M. Maspin overexpression modulates tumor cell apoptosis through the regulation of Bcl-2 family proteins. *BMC Cancer*. 2005 May 20;5:50.
62. Liu J, Yin S, Reddy N, et al. Bax mediates the apoptosis-sensitizing effect of maspin. *Cancer Res*. 2004 Mar 1;64(5):1703-11.