

**T.C.
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PROGRAMI**

**MİDE KANSERLERİNDE MATRİS
METALLOPROTEİNAZ-7 GENİNİN PROMOTÖR
BÖLGESİNDEKİ (-181 A/G) POLİMORFİZMİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Hazırlayan
Ayşe Deha KETENCİ**

**Danışmanı
Doç. Dr. M. Burcu IRMAK YAZICIOĞLU**

İstanbul – 2013

**T.C.
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PROGRAMI**

**MİDE KANSERLERİNDE MATRİS
METALLOPROTEİNAZ-7 GENİNİN PROMOTÖR
BÖLGESİNDEKİ (-181 A/G) POLİMORFİZMİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Hazırlayan
Ayşe Deha KETENCİ**

**Danışmanı
Doç. Dr. M. Burcu IRMAK YAZICIOĞLU**

İstanbul – 2013

T.C.
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı Tezli Yüksek Lisans öğrencisi **Ayşe Deha KETENCİ** tarafından hazırlanan “Mide Kanserlerinde MMP-7 Geninin Promotor Bölgesindeki -181 A/G Polimorfizminin İncelenmesi” adlı bu çalışma jürimizce Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Tarihi : 26.09.2013

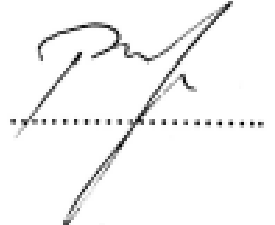
(Jüri Üyesinin Ünvanı , Adı , Soyadı ve Kurumu) :

İmzası :

Jüri Üyesi: Doç.Dr.Burcu I.YAZICIOĞLU
Danışman-HAL.Üniv.Mol.Biy.ve Gen.ABD Öğr.Üyesi

.....


Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.M.Baki YOKEŞ
HAL.Üniv.Mol. Biy.ve Gen.ABD Öğr.Üyesi

.....


Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Nilgün GÜRBÜZ
Süleyman Demirel Üniv. Öğr.Üyesi

.....


Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Özlem KURNAZ
HAL.Üniv.Mol.Biy.ve Gen.ABD Öğr.Üyesi (Yedek)

.....

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Ayla ARSLAN
Üsküdar Üniv. Öğr.Üyesi (Yedek)

.....

ÖNSÖZ

Bu çalışma, 20011-2013 yılları arasında T.C. Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nün bilimsel araştırma ve uygulama çalışmalarına verdiği destek ile hazırlanmıştır.

Yüksek lisans eğitimin ve tez çalışmam boyunca bana gösterdiği sonsuz sabır, verdiği sevgi ve destek ile tez çalışmamın tamamlanmasını mümkün kılan danışmanım Sayın Doç. Dr. M. Burcu IRMAK YAZICIOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamda kullanılmak üzere gerekli örneklerle erişimi sağladığı ve her an yanımda olduğu için kendisine minnettarım.

Tez dönemim boyunca da göstermiş olduğu anlayış, sabır ve manevi desteğinden dolayı sevgili Ar. Gör. Anıl Cebeci'ye aynı zaman da desteklerini eksik etmeyen Ar. Gör. Deniz Kanca, Yrd. Doç. Dr. Özlem Kurnaz, Ar. Gör. Ozan Tiryakioğlu ve yüksek lisans eğitimin boyunca yanımda olan canım arkadaşım Burcu Gürbüz'e sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu zorlu süreçte bıkmadan her an yanımda olan desteklerini ve varlıklarını benden esirgemeyen sevgili annem Sevgi Ketenci, kız kardeşim Şeyma Ketenci ve özellikle de ablam Seha Ketenci'ye teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

İstanbul, 2013

Ayşe Deha Ketenci

Sevgili Babam M. Selami KETENCİ'nin anısına...

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

KISALTMALAR	IV
ŞEKİLLER	VI
TABLolar	VIII
ÖZET	X
SUMMARY	XI
1.GİRİŞ	1
1.1 Kanser ve Oluşum Faktörleri	1
1.1.1 Kalıtsal Faktörler	1
1.1.2 Çevresel Faktörler	2
1.2. Mide Kanseri	2
1.2.1. Midenin Yapısı ve Mide Kanseri Tipleri	3
1.2.1.1 Mide ve Yapısı	3
1.2.1.2 Mide Kanseri Tipleri	4
1.2.2. Mide Kanserinin Etiyolojisi	6
1.2.2.1 Oksidatif Stres	6
1.2.2.2. <i>H.pilori</i>	7
1.2.2.3 Multifokal atrofik gastrit	10
1.2.2.4 <i>Epstein-Barr virüs</i> (EBV)	10
1.2.2.5 Diyet	11
1.2.2.6 Radyasyon	11
1.2.2.7 Sigara ve Alkol Kullanımı	11
1.2.2.8 Pernisiyöz anemi	12
1.2.2.9 Sosyoekonomik Durum	12
1.2.2.10 Meslek	12
1.2.2.11 Kişisel Özellikler	12
1.2.2.12 Aile Hikayesi	12
1.2.3. Mide Kanserinin Moleküler Mekanizması	13
1.2.3.1. Onkogenler	14
1.2.3.2. Tümör Süpresör Genler	15
1.2.3.3 Hücre Adhezyon Molekülleri ve Metastaz ilgili genler	16

1.2.3.4 Hücre Döngüsü Düzenleyicileri.....	17
1.2.3.5 Mikrosatellit instabilitesi (MSİ) ve Yanlış eşleşme tamir genleri(MMR).....	17
1.2.3.6 Büyüme Faktörleri ve Sitokinler.....	18
1.2.3.7 Mikroribonükleik Asitler (miRNAs)	19
1.2.3.8 Epigenetik Değişiklikler	19
1.3. Matris Metalloproteinazlar (MMP'ler)	20
1.3.1. MMP'lerin Yapısı.....	22
1.3.2 MMP'lerin Katalitik Aktivitelerinin Düzenlenmesi.....	23
1.3.2.1 Transkripsiyon	24
1.3.2.2. Pro-enzimin aktivasyonu	25
1.3.2.3 Aktif Enzim İnaktivasyonu	26
1.4. Matris Metalloproteinaz-7 (MMP-7)	27
2.AMAÇ	31
3.GEREÇLER	33
3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler.....	33
3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tamponları ve DNA Polimeraz Enzimleri.....	33
3.3. Primerler	34
3.4. Restriksiyon Enzimi ve Reaksiyon Tamponu.....	34
3.5. Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar.....	34
3.6. DNA Büyüklük Markörleri.....	35
3.7. Cihazlar ve Markaları	35
4. YÖNTEMLER	36
4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile çoğaltılacak bölgenin belirlenmesi	36
4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR).....	36
4.3. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)	37
4.4 Jel Elektroforezi	39
4.5. Dizi Analizi	39
4.6. MMP-7 Promotör A/G Polimorfik Bölgesinin Moleküler Analizi.....	40
4.7. İstatistiksel Veri Analizi	40
5. SONUÇLAR	41
5.1. Örneklerin Tanımı.....	41
5.2. MMP-7 Geni Promotör Bölgesi -181. A/G Polimorfizminin PZR- RFLP Yöntemi ile Moleküler Analizi	42
5.2.1. İlgili Gen Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması.....	42
5.2.2. PZR Ürünlerinin Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi	43
5.2.3.Dizi Analizi	45

5.3. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	46
5.3.1. Hardy-Weinberg Analizi ve Genotip - Allel Frekansları	47
5.3.2. MMP-7 geni -181 A/G polimorfizmi ile Mide Kanseri İlişkisinin Araştırılması.....	48
5.3.2.1. Çapraz Tablolar ve Ki-Kare Bağımsızlık Testi	48
5.3.3. Lojistik Regresyon Analizi	51
5.3.4 AA, AG ve GG Genotiplerinin Kategorik Değişkenler Açısından Karşılaştırılması	51
5.3.5. Sigara ile Hastalık İlişkisinin Araştırılması	53
6.TARTIŞMA.....	55
7.KAYNAKLAR	59
8. ÖZGEÇMİŞ	72

KISALTMALAR

A	: Adenin
AP-1	: Aktivatör Protein-1
APC	: Adenomatosis Poliposis Koli
bç	: Baz çifti
Bfgf	: Temel fibroblast büyüme faktörü
BRCA	: Göğüs kanseri geni
BSA	: Bovine serum albumin
C	: Sitozin
Ca	: Kalsiyum
cagA	: Sitotoksin ilişkili gen A
cagPAI	: Sitotoksin ilişkili gen patojenite adası
CBF	: Çekirdek bağlayıcı faktör
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
c-erb	: eritroblastosis onkogen B
CIZ	: CAS ilişkili çinko parmak protein
C-met	:Sitoplazmik Mezenkimal-epitel transisyon faktörü
c-myc	: nükleer regülatör protein
CXC	: Kemokin
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNTPs	: Deoksiribonükleotid trifosfat
E2F	: transkripsiyon faktörü
EBV	: <i>Epstein-Barr virüs</i>
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü resptörü
ESM	: Ekstrasellüler matris
EtBr	: Etidyum Bromid
FN	: Fibronektin
G	: Guanin
GDP	: Guanozin difosfat
GF	: Büyüme faktörü
GTP	: Guanozin trifosfat
H.G	: Histolojik evre
H.pilori	: <i>Helicobakter pilori</i>
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
HHV	: İnsan herpes virüs
hMLH1	: İnsan mutl homolog 1
IARC	: Uluslar arası kanser araştırmaları ajansı
IL	: İnterlökin
İGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
K	: Kontrol grubu

kb	: Kilobaz
K-ras	: Kristen rat serkoma viral onkogeni
K-sam	: Fibroblast büyüme faktör reseptörü
LEF	: Lenfoid arttırıcı faktör
LOH	: Heterozigotluk kaybı
mA	: Miliamper
MALT	: Mukoza ilişkili lenfoid doku
miRNA	: Microribonükleik asit
ml	: Mililitre
mM	: Mikromolar
MMP	: Matris Metalloproteinaz
MMR	: Mismatch tamir geni
MSİ	: Mikrosatellit instabilitesi
MT-MMP	: Membran tipi matris metalloproteinaz
N	: Normal doku
N.K	: Negatif kontrol
nm23	: Nükleosit difosfat kinaz
NRP	: Nötrofilin
NRP-1	: Neurofilin-1
OPN	: Osteopontin
P.K	: Pozitif kontrol
PAI	: Plazminojen aktivatör inhibitörü
PDGF	: Platelet türevi büyüme faktör
PEA	: Polyoma arttırıcı A
PEBP2	: Polyomavirüs bağlanma arttırıcı protein 2
PG	: Prostaglandin
pS2	: Trefoil faktör 1 protein
PUMP	: Putative uterin metalloproteaz
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RARβ	: Retinoik asit reseptör
RFLP	: Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
ROS	: Reaktif oksijen türevleri
RUNX	: Rant ilişkili transkripsiyon
SF	: Scatter faktör
sn	: Saniye
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
SRC	: Sark geni KİNAZ
T	: Timin
T	: Tümör doku
Tcf	: T hücre faktörü
TGFβ	: Transforme edici büyüme faktörü
TIE	: Transforme edici büyüme faktörü inhibitör elemanı
TIMP	: Metalloproteinaz doku inhibitörü
uPA	: Ürokinaz tip plazminojen faktör
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
vacA	: Vakuolizasyon nedeni toksin A
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
VN	: Vitronektin
Zn	: Çinko

ŞEKİLLER

Sayfa No.

Şekil 1.1	Mide anatomisi	3
Şekil 1.2	H.pilori enfeksiyonunun sonuçları.....	10
Şekil 1.3	İntestinal tip mide kanser gelişiminde rol alan genetik ve epigenetik değişiklikler	13
Şekil 1.4	Difüz tip mide kanser gelişiminde rol alan genetik ve epigenetik değişiklikler	14
Şekil 1.5	MMP enzimlerinin moleküler yapısı	23
Şekil 1.6	MMP ifade ve aktivasyon aşamaları, MMP 'lerin kanserdeki rolü	24
Şekil 1.7	MMP' lerin transkripsiyon regülasyonu	25
Şekil 1.8	ProMMP nin aktivasyon mekanizması	26
Şekil 1.9	MMP-7 ve diğer MMP' lerin yapılarının şematik olarak gösterimi	27
Şekil 1.10	MMP-7 ve diğer insan MMP' lerinin promotör bölgelerindeki düzenleyici elemanlar.....	28
Şekil 4.1	PZR ile çoğaltılan bölgenin belirlenmesi	36
Şekil 5.1	Hasta grubu için: MMP-7 181 A/G polimorfik promotör bölgesinin PZR ile amplifikasyon sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görünümü	43
Şekil 5.2	Kontrol grubu için: MMP-7 181 A/G polimorfik promotör bölgesinin PZR ile amplifikasyon sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görünümü	43
Şekil 5.3	Hasta grubuna ait polimorfik promotör bölgesi amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının %3'lük agaroz jelde görünümü.....	44
Şekil 5.4	Kontrol grubuna ait polimorfik promotör bölgesi amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının %3'lük agaroz jelde görünümü.....	44
Şekil 5.5	Hasta grubun ait normal ve tümör doku genotipleri birbirinden farklı olan örnekler.....	44
Şekil 5.6	Dizi analizine gönderilecek PZR örneklerinin %2'lik agaroz jelde görüntüsü.....	45
Şekil 5.7	MMP-7 -181 promotör bölgesi AA homozigot kromotogram görünümü	45

Şekil 5.8 MMP-7 -181 promotör bölgesi AG heterozigot kromotogram görünümü	46
Şekil 5.9 MMP-7 -181 promotör bölgesi GG heterozigot kromotogram görünümü.....	46
Şekil 5.10 Hasta Grubunun Normal Dokusu genotipi, Tümörlü Doku genotipi ile Kontrol Grubunun genotipi dağılım.....	50

TABLULAR

Sayfa No.

Tablo 1.1 Mide kanserinin moleküler mekanizmasındaki etkili genler ve moleküller	13
Tablo 1.2. MMP enzimlerinin sınıflandırılması	21
Tablo 1.3 MMP-7 geni polimorfizmleri	29
Tablo 3.1 MMP-7 geni -181 A/G polimorfik bölgesini oluşturup çoğaltmak için kullanılan primerler	34
Tablo 4.1 EcoR1 polimorfik bölgenin çoğaltılması için belirlenmiş PZR ve yükleme koşulları	37
Tablo 4.2 RFLP reaksiyon koşulları, miktarları ve sonuçta oluşması beklenen DNA parça uzunlukları	38
Tablo 4.3 Agaroz jel konsantrasyonları, kullanıldıkları yöntemler ve yükleme koşulları	39
Tablo 4.4 MMP-7 promotör polimorfizm bölgesi, kesimi ve beklenen parça uzunlukları	40
Tablo 5.1 Mide kanser hastalarının belirli karakteristik özelliklerine göre yüzde oranları	41
Tablo 5.2 Kontrol grubu için yaş ortalaması ve standart sapma değerleri ve belli özelliklerinin yüzdesi	42
Tablo 5.3 Hardy-Weinberg analizi	47
Tablo 5.4 Hasta grubunda Tümör dokularına ait MMP-7 181. promotör bölgesi genotip ve allel frekansları	48
Tablo 5.5 Hasta grubunda Normal dokulara ait MMP-7 181. promotör bölgesi genotip ve alel frekansları	48
Tablo 5.6 Kontrol grubuna ait MMP-7 181. promotör bölgesi genotip ve alel frekansları	48
Tablo 5.7 Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikler açısından karşılaştırılması	49
Tablo 5.8 Hasta grubuna ait Normal doku genotipi ve Tümörlü doku genotipi yüzdeler dağılımı	49
Tablo 5.9 Hasta Grubunun Normal Doku genotipi ile Tümörlü Doku genotipi Çapraz tablosu ve Ki-kare bağımsızlık testi	49

Tablo 5.10 Hasta Grubunun Normal Doku genotipi ile Kontrol grubu genotipi Çapraz tablosu ve Ki-kare bağımsızlık testi.....	50
Tablo 5.11 Lojistik Regresyon Analizi	51
Tablo 5.12 Hasta grubunda normal doku genotiplerinin kategorik değişkenler açısından karşılaştırılması.....	52
Tablo 5.13 Hasta grubunda tümörlü doku genotiplerinin kategorik değişkenler açısından karşılaştırılması	53
Tablo 5.14 Hasta grubu normal doku ve kontrol grubu sigara kullanmayan bireylerinin genotipleri çapraz tablosu ve ki-kare bağımsızlık testi	53
Tablo 5.15 Hasta grubu normal doku ve kontrol grubu sigara kullanan bireylerinin genotipleri çapraz tablosu ve ki-kare bağımsızlık testi	54

GENEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı : Ayşe Deha Ketenci
Anabilim Dalı : Moleküler Biyoloji ve Genetik
Programı : Moleküler Biyoloji ve Genetik
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Meliha Burcu IRMAK YAZICIOĞLU
Tez Türü ve Tarihi : Yüksek Lisans – Eylül 2013

ÖZET

MİDE KANSERLERİNDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-7 GENİNİN PROMOTÖR BÖLGESİNDEKİ (-181 A/G) POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

Mide kanseri, dünyada kanser nedenli ölümlerde 2. sırada gelmektedir ve uzak doğu ülkelerinde görülme sıklığı yüksektir. Etiyolojisinde ise *H.pilori*, alkol ve sigara kullanımı, ailesel hikaye gibi birçok faktör rol almaktadır. Matris metalloproteinaz enzim ailesi üyeleri diğer kanserleşme süreçlerinde olduğu gibi mide kanseri gelişiminde de ekstrasellüler matriste kontrolsüz protein degradasyonu yaparak rol oynamaktadır. Ayrıca MMP genlerindeki çeşitli polimorfizmler pek çok kanser çeşidiyle de ilişkilendirilmiştir. MMP ailesinden MMP-7 kanser ilişkisi açısından MMP' ler arasında eşsiz bir yere sahiptir çünkü kanser hücreleri tarafından üretilen birkaç MMP' den biridir. Bu özelliği MMP-7' nin kanser araştırmalarında yer almasını sağlamıştır. MMP-7 -181 A/G polimorfizmi çeşitli kanser türleriyle ilgili çalışmalarda yer almıştır. Yaptığımız çalışmada mide kanseri ile MMP-7 geni -181 A/G transisyon polimorfizminin ilişkisini incelemek için bu polimorfizmin Türk populasyonunda mide kanser hastalarının tümörlü ve normal dokularında PZR-RFLP moleküler analizi gerçekleştirilmiştir. Hasta grubunun kendi içinde ve kontrol grubuyla karşılaştırılmaları yapılmıştır. Analizler sonucunda MMP-7 -181 A/G polimorfizmiyle mide kanseri arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır.

Anahtar Kelimeler: MMP-7, mide kanseri, matris metalloproteinaz, polimorfizm

GENERAL INFORMATION

Name and Surname : Ayşe Deha Ketenci
Department : Moleküler Biyoloji ve Genetik
Program : Moleküler Biyoloji ve Genetik
Supervisor : Associate Prof. Dr. Meliha Burcu IRMAK
YAZICIOĞLU
Degree Awarded and Date : Master of Science – September 2013

SUMMARY

THE -181 A/G POLYMORPHISM ANALYSIS OF MMP-7 PROMOTOR REGIONS IN GASTRIC CANCER

Gastric cancer is the second most common cause of cancer-related death in the world and the incidence is high in eastern countries. The etiology involves many factors such as *H. pylori*, alcohol and tobacco use, and family history. The members of matrix metalloproteinase family take part in development of gastric cancer through uncontrolled protein degradation in the extracellular matrix, similar to their role in other cancerous processes. Moreover, MMP gene polymorphisms are associated with a variety of cancer types. MMP-7, a member of the MMP family, has a unique place in terms of its relationship to cancer, being one of the few MMPs produced by the cancer cells, leading it to be the subject of study in many cancer research projects. – 181 A / G polymorphism in MMP-7 has been studied in a variety of cancer research projects. In this study, to analyze the association of gastric cancer and MMP-7 gene -181 A / G polymorphism PCR-RFLP molecular analysis was realized in normal and tumorous tissues of the gastric cancer patients from the Turkish population and the results are compared with the control group. As a results of analysis, MMP-7 -181 A/G polymorphism was not significantly associated with gastric cancer.

Key words: MMP-7, gastric cancer, matrix metalloproteinase, polymorphism.

1.GİRİŞ

1.1.Kanser ve Oluşum Faktörleri

Kanser; kontrolsüz büyüyen hücrelerin orijinal bölgelerinden başka bölgelere göç etme yeteneği kazanmalarıyla ortaya çıkan, genetik ve epigenetik hasar ile sürdürülen çok basamaklı ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Ayrıca somatik genetik hastalıkların en yaygın ve komplike olanıdır (Futreal ve diğ., 2001).

Batı toplumlarında her üç insandan birinde kanser görülmekte ve bu kanser hastalarının beşte biri de ölmektedir. Amerikan Kanser Topluluğunun verilerine göre Amerika'da dört ölüm nedeninden biri kanserdir ve 2008 yılında 1.437.180 yeni kanser vakası ve 565,650 kanser nedenli ölüm kaydedilmiştir (Jemal ve diğ., 2008). Türkiye'de ise kanser, "bildirimi zorunlu hastalıklar listesi" ne alınmış olmasına rağmen, ülkemizde gerçek kanser insidansı bilinmemektedir. Ancak yapılan çalışmalar doğrultusunda Türkiye'de kanser, 1998 yılında en sık görülen ölüm sebepleri arasında %15'lik bir oranla , %38 ile 1. sırada yer alan kalp ve damar hastalıklarını takip ederek en sık görülen 2. ölüm sebebi olarak gösterilmiştir (Türk kanser araştırma ve savaş kurumu, 2013)

Tüm kanserler, DNA dizisindeki birtakım değişimler sonucu ortaya çıkmaktadır ve kanserin oluşumundaki faktörler kalıtsal veya çevresel olabilir. Ancak çevresel faktörlerden dolayı kanser meydana gelme olasılığı, kalıtsal faktörlerden daha yüksektir (Williams, 2001).

1.1.1 Kalıtsal Faktörler

Çeşitli kanser türlerinin kalıtsallığı üzerine yapılan çalışmalar devam etmektedir. Yapılan çalışmaların bazılarında lösemi, meme ve akciğer kanseri gibi kanser çeşitlerinin kalıtsallığına dikkat çekilmiştir (Susan ve Dwight, 1999; Yokuş ve Çakır, 2012).

Kanserin çok basamaklı bir hastalık olmasından ötürü tek bir gen direk olarak kanser oluşumuyla ilişkilendirilemese de tümör baskılayıcı genlerdeki bir bozukluk, kalıtsal olarak aktarıldığında ve sigara gibi karsinojenlerin ilave etkileriyle kansere yatkınlık gözlenebilir (Williams, 1992).

1.1.2 Çevresel Faktörler

Çevresel faktörler; alkol, sigara, ilaç kullanımı ve beslenme alışkanlıkları gibi kimyasal etkenler, virüs ve bakteri gibi biyolojik etkenler, radyasyon, ısı, güneş ışığı, mekanik darbeler gibi fiziksel etkenler şeklinde üç gruba ayrılabilir.

Kimyasal etkenlerden en yaygın olanı sigara olarak kabul edilebilir. Sigara kullanan bireylerin akciğerlerinde biriken “benzopiren” hücre içine girerek, DNA’yı oluşturan bazlardan guanin ile bağlanır bunun sonucu olarak replikasyon sırasında guanin, timin olarak algılanır ve karşısındaki eşlenik baz da sitozin yerine adenin olur. Bu durum GC, AT dönüşümüdür. Sonuçta oluşan bu mutasyonlar, bir onkogende ve tümör baskılayıcı gende oluştuğunda, hücreler durmadan bölünebilir ve kanserleşme gerçekleşebilir.

Fiziksel etkenlerden iyonize radyasyon gibi ışınımlar biyolojik makromoleküllere direkt olarak etki edebilecek yeterli enerjiye sahip olduklarından biyolojik makromoleküllerden elektron kopartabilir ya da bunları pozitif yükle yükleyebilir ve DNA’da tek ve çift zincir kırıkları ile baz yada şekerde modifikasyonlara sebep olabilirler. Bu hasarlar da kanserleşmeye neden olabilir.

Biyolojik etkenler olarak, *Helicobacter pilori*(*H.pilori*), T hücreli lösemi virüsü, human papilloma virüsü gibi virüs ve bakteriler normal karaktere sahip bir hücre kültürünü transforme ederek kanser oluşturabilirler (Sahu, 1990; Heynick ve diğ., 2003). Yapılan çalışmalarda özellikle *H.pilori* ve mide kanseri ilişkisi üzerinde durulmuştur (Correa, 1985; Parsonnet ve diğ., 1991).

1.2. Mide Kanseri

Dünyadaki en yaygın malignitelerden biri mide adenokarsinomudur. Multifaktöriyel olan etyolojisinden, *H.pilori*, beslenme alışkanlıkları, çevresel faktörler ve %10 oranında da genetik faktörler sorumlu tutulmaktadır.

İnsidansı coğrafik varyasyonlar gösterir, doğu ülkelerinde daha sıktır (Hamilton ve Meltzer, 2006; Sun ve diğ., 2002). Mide kanserinin erkeklerde görülme sıklığı kadınlara göre 2 kat daha fazladır (Danesh,1999). Gelişmekte olan ülkeler ve gelişmiş ülkelerde kanser sıralamasında farklılık olsa da dünya çapında her yıl ortalama yaklaşık 700.000 kişi bu hastalıktan ölmekte olup, yıllık insidansı 800.000 vakadır (Eslick ve diğ., 1999).

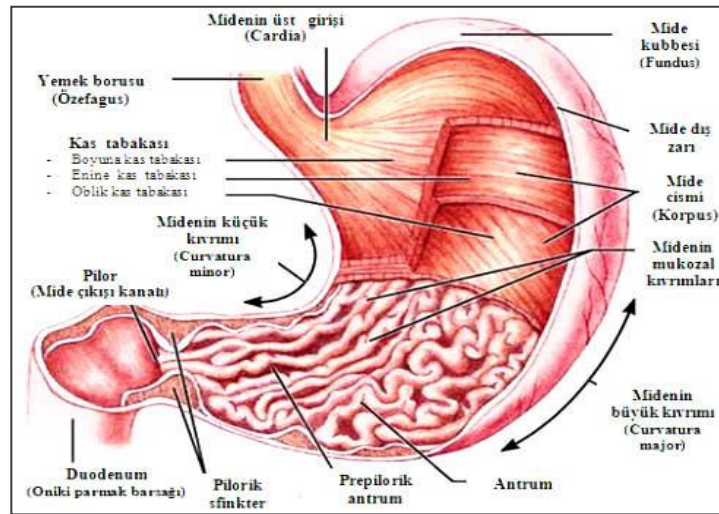
1.2.1. Midenin Yapısı ve Mide Kanseri Tipleri

1.2.1.1 Mide ve Yapısı

Mide, yiyecek sindirimini sağlayan ve hormon salgılayan hem ekzokrin hem de endokrin bir organdır ve sindirim kanalının genişlemiş kısmıdır. Midenin genel olarak 3 görevi vardır; besinlerin depolanması, kısmen sıvı haldeki kimusu (mideye gelen besinlerin asidik sıvı eklenmiş hali) oluşturmak için mide salgılarıyla besinlerin karıştırılması ve kimusun ince barsağa atılış hızının kontrolü. (Junqueira, Carneiro ve Kelley, 1998: 282; Snell, 1995: 195-196).

Özofagus ile duodenum arasında yer alan ve 'J' harfi şeklini andıran midenin anatomik olarak kardiya, fundus, korpus, antrum ve pilorik kanal olmak üzere beş bölgesi vardır (Şekil 1.1.) (Junqueira, Carneiro ve Kelley, 1998: 282; Snell, 1995: 196; Netter, 2002:259).

Mide, yukarıda alt özofagiyal ve aşağıda pilor sfinkteri olmak üzere iki sfinkter ile kontrol edilmektedir. Bu sfinkterler sayesinde besinlerin mideye giriş çıkışı düzenlenir.



Şekil 1.1. Mide anatomisi (Online Anatomi Atlası, 2012)

Mide histolojik olarak beş tabakadan oluşmaktadır. Bunlar içten dışa doğru;

- 1- mukoza
- 2- submukoza
- 3- muskularis propriya
- 4- subseroza
- 5- seroza 'dır.

1-Mukoza tabakası, muskularis mukoza ve lamina propriya olmak üzere iki farklı tabaka içerir. Muskularis mukoza, yüzey epiteli, bez epiteli ve ince düz kas liflerinden oluşurken lamina propriya bağ dokusu ve elastik liflerden oluşur. Midenin iç yüzünü tamamen örten yüzey epiteli, kardiya bölgesinde özafagus ile Z- çizgisi adı verilen düzensiz ve zikzaklı bir sınır yapar. Pilorda ise sınır yoktur ve mide mukozası ince barsak mukozası ile devam eder.

2-Anastomoz açıdan en güçlü tabaka olan submukoza gevşek bağ dokusu elemanları, geniş bir damar, sinir ve lenfatik ağdan oluşmaktadır.

3-Muskularis propriya (kas tabakası) üç tabakadan oluşur. Bunlar içten dışa 1-oblik kas tabakası 2- sirküler kas tabakası 3-longitüdüinal kas tabakasıdır. Midenin fundus bölgesinde her üç tabaka da bulunmaktadır. Oblik ve longitüdüinal kas tabakaları korpus bölgesinde zayıflar, antrum ve pilor bölgelerinde ise kuvvetlenerek pilor sfinkterini oluştururlar. Bu oluşum antrum bölgesinde besinlerin duodenuma kontrollü geçişini sağlar. Midenin sirküler lifleri midede sonlanır, duodenuma devam etmez.

4-Subseroza muscularis propriya ile seroza tabakaları arasında bulunan fibro adipoz dokudan oluşan tabakadır.

5- En dışta bulunan seroza tabakası viseral peritondan oluşur (Junqueira, Carneiro ve Kelley, 1998: 282-283; Snell, 1995: 195-196).

1.2.1.2 Mide Kanseri Tipleri

Mide kanserlerinin midede farklı lokalizasyonları vardır. %50-60'ı pilor ve antrumda, %25'i kardiya, %15-25'i de fundus ve korpus bölgesinde lokalize olur. Midenin küçük kurvatür bölgesi %40 oranında etkilenirken büyük kurvatür %12 oranında etkilenir. Sıklığı daha az olmasına rağmen büyük kurvatürdeki ülserasyonların malignleşme oranı daha yüksektir (Kumar, Cotran ve Robbins, 2000:488)

Mide karsinomunun üç tip sınıflandırma şekli vardır.

- Makroskopik büyüme paterni
- İnvazyon derinliği
- Histolojik subtip

İnvazyon derinliği diğer morfolojik özelliklere göre klinik tanımlamada daha önemlidir.

Mide karsinomunda erken ve ilerlemiş olarak iki tip terim kullanılır. Erken mide karsinom metastaz varlığı ya da yokluğu dikkate alınmadan mukoza ve submukoza sınırlı lezyon olarak kabul edilir. İlerlemiş mide karsinomu ise muskularis propriya'ya kadar ya da daha da ilerlemiş durumlar için kullanılır. Erken mide karsinomasında öncül lezyon mide mukozal displazidir ve erken mide karsinomu zamanla ilerlemiş mide karsinomu haline gelebilir.

Mide karsinomasının erken ve ilerlemiş evrelerinde üç makroskopik büyüme paterni gözlenir.

1-Ekzofitik tip: Tümörün lümeneye doğru büyüdüğü tip

2-Düz ya da deprese tip: Mukozada görülen bir kitle olmayan tip

3-Çukur tip: Mide duvarında yüzeysel ya da derin erozif tip (Kumar, Cotran ve Robbins, 2000:489)

Mide kanserlerinin mikroskopik konfigürasyonları ve büyüme özellikleri göz önüne alınarak yapılan Lauren sınıflandırmasına göre iki morfolojik tipi vardır. (Kumar, Cotran ve Robbins, 2000:489)

1-Difüz tip: Midenin stromasına nüfuz eden ve birbirine yapışık olmayan kanser hücreleri olup bir beze (salgı bezi) görünümünde olmayan normal mide kanser hücrelerinden köken alan hücrelerdir. Bu hücreler genellikle mide duvarının en derin kısımlarına kadar nüfuz edebilirler. Difüz tip daha çok peritoneal yayılımlar ile ortaya çıkmaktadır, çevresel faktörlerle ilişkisi daha azdır. Genç insanlarda görülür. Ayrıca kadın ve erkeklerde rastlanma oranı eşittir (Kumar, Cotran ve Robbins, 2000:489)

2- İntestinal tip: Kronik gastrit temelinde intestinal metaplaziye uğramış mide mukus hücrelerinden kökenlenir ve kolonik adenokarsinoma benzeyen neoplastik intestinal guddeler meydana getiren malign hücrelerden oluşur (Kumar, Cotran ve Robbins, 2000:489). Mikroskop altında kolonileşmiş mukoza görünümüne benzer salgı bezleri şeklinde görülür (Smith ve diğ., 2006).

İntestinal tip genellikle karaciğer metastazı ile ortaya çıkar. Difüz tipe göre çevresel faktörlerle ilişkisi daha fazladır (Cahill ve diğ. 1996). Genelde 50' li yaşlardan sonra ve erkeklerde kadınlara göre iki kat fazla görülür (Kumar, Cotran ve Robbins, 2000:488).

1.2.2. Mide Kanserinin Etiyolojisi

Mide kanserinin etiolojisinde *H.pilori*, oksidatif stres, Multifokal atrofik gastrit, *Epstein-Barr* virüsü (EBV), diyet, radyasyon, alkol ve sigara kullanımı, Pernisiyöz anemi, sosyoekonomik durum, meslek, kişisel özellikler ve ailesel hikaye gibi birçok faktör rol almaktadır. Mide kanserinin etiyolojisi multifaktöriyel olmasına rağmen mide kanseri gelişiminde en sık rastlanan faktör olarak *H.pilori* gösterilmektedir.

1.2.2.1 Oksidatif Stres

Besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüştürülmesi sırasında açığa çıkan reaktif moleküllere serbest radikaller adı verilir. Oksijen molekülü yaşam için vazgeçilmez bir kaynaktır ancak bazı metabolik faaliyetler sırasında reaktif oksijen türevleri (ROS) olarak adlandırılan son derece reaktif olan ara ürünler oluşur. ROS lipid, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerine zarar verir.

Aerobik canlılarda serbest radikal oluşumunu kontrol altında tutmak ve bunların zararlı etkilerine karşı canlıyı korumak için antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır. Ancak bu savunma sistemleri her zaman serbest radikallerin etkisini önleyemez ve oksidatif stres durumu açığa çıkar.

Bazı enzimler, proteinler, selenyum, askorbik asit (C vitamini), tokoferoller (E vitamini), karotenoidler, glutatyon, koenzim Q, ubikinon ve türevleri antioksidan moleküllerdir. Aşırı alkol tüketimi, sigara kullanımı, elektromanyetik radyasyon, güneş ışınları (UV), kronik inflamasyonlar, aşırı demir yüklemesi, aşırı fiziksel egzersiz, yaşlanma, doğum kontrol hapları serbest radikal kaynakları arasında sayılır (Brody, 1999; Fang ve diğ., 2002).

ROS birçok hastalığın oluşumunda rol oynar, özellikle kanser oluşumunun farklı evrelerine etki ettiği kanıtlanmıştır (Williams, 1992).

ROS'tan kaynaklanan DNA hasarının oluşumunda hidroksil radikali tarafından oluşturulan DNA fragmentasyonu ve oksidatif stres sonucu açığa çıkan endonükleaz inaktivasyonu ile oluşan DNA fragmentasyonu şeklinde iki mekanizma vardır (Halliwell ve Aruoma, 1991).

Oksidatif strese bağlı olarak gelişen, DNA hasarı onarılamadığı takdirde premutojenik özellik gösterir (Yokuş ve Çakır, 2002). Mitozun hasarlı kopyalanmış DNA ile devamı, tümör hücresi oluşumuna neden olabilir. ROS, protein ve lipid peroksidasyonu ile plazma membranında hücrel aktiviteleri etkileyerek yapısal değişiklikler oluşturabilir, membrana bağlı protein kinazları, büyüme faktörleri ve reseptörlerini böylece de sinyal iletimini, onkogen aktivasyonunu ve baskılayıcı genlerin inaktivasyonunu etkileyebilir ve bu şekilde ROS, kanser oluşumuna etki edebilmektedir (Yokuş ve diğ., 2008).

ROS üretimi ve *H.pilori* arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır (Davies ve diğ., 1994). *H.pilori* varlığında aktive olan ev sahibi nötrofillerinin ROS üretim kaynağı olduğunu öne süren görüşler mevcuttur. Ayrıca bazı *H.pilori* suşlarının da enfeksiyon yoluyla ROS üretimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Suzuki ve diğ., 1996). Buna dayanarak *H.pilori* 'nin mide kanser gelişimine katkıda bulunması nedeniyle oksidatif stres ve mide kanser gelişimi arasında yakın bir ilişki olduğu söylenebilir.

1.2.2.2. *H.pilori*

H.pilori ilk olarak 1983 yılında Barry Marshall ve Robin Warren tarafından mide biyopsi örneklerinde üretilmiştir. Önceleri Kampilobakter benzeri mikroorganizmalar olarak isimlendirilmiş sonra antrumda yerleşmesi nedeniyle *kampilobakter Pilori* adını almıştır.

Daha sonra enzimatik ve fonksiyonel olarak *kampilobakter*'den farklı özelliklerinin saptanmasıyla ve helikal görünümünden dolayı *Helikobakter pilori* adını almıştır (Goodwin ve diğ. 1986; Blaser, 1994; Dooley, 1993).

Zorunlu mikroaerofilik, üreaz, katalaz ve oksidaz enzimlerine sahip, spiral bir gram negatif bakteri olan *H.pilori*, 1994 yılında Uluslar Arası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından, yapılan çalışmaların fazlalığına dayanarak, birinci grup insan karsinogeni olarak katagorize edilmiştir (IARC 1994).

Ülkelerin gelişmişlik düzeylerine göre değişmekle beraber dünya popülasyonunun yarısı *H.pilori* enfeksiyonuna sahiptir (Crew ve Neugut, 2006; Graham ve diğ., 1991; Yamamoto 2001). Bu organizmayla enfekte olmanın genellikle gastrit gelişimiyle sonuçlandığı kabul edilmektedir. *H.pilori* enfeksiyonlarının yaklaşık %10 'u peptik ülser, %1 kadar mide kanseri ve %0,01'den azı mukoza ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoma hastalığı ile sonuçlanmaktadır (Kuipers, 1999; Parsonnet, 1995; Parsonnet, 2004) (Şekil 1.2.).

Kanser gelişiminde önemli olan etken enfeksiyonun edinildiği yaştır. Uzun süren *H.pilori* enfeksiyonunun kanser gelişimine neden olabilen atrofi ve intestinal metaplaziye yol açtığı gösterilmiştir (Kuipers ve diğ., 1995). Gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyon çocukluk çağında edinildiği için 20'li yaşlarda popülasyonun %80'inde enfeksiyona rastlanabilmektedir.(Crew ve Neugut, 2006; Graham ve diğ., 1991). Gelişmiş ülkelerde ise çocukluk çağında enfekte olma az olduğundan 40'lı yaşlarda popülasyonun %30 kadarında enfeksiyona rastlanabilmektedir (Malaty ve diğ., 1998). Türkiye'de ise gelişmekte olan ülkelerdeki gibi enfeksiyona rastlama oranı %80 civarındadır (Gümürdülü ve Taşdoğan, 2009).

Uzun süreli enfeksiyonların mide kanseri gelişimine zemin hazırladığını gösteren çalışmalar olsa bile *H.pilori* enfeksiyonuna rastlama oranının %80'lerde olduğu Türkiye'de, Arı, *H.pilori* enfeksiyonu ile mide kanseri ve tipleri arasında anlamlı bir ilişki kurulamadığını belirtmiştir (Arı, 2006: 43).

Öldürücü bir organizma kombinasyonu, serbest bir çevre ve genetik olarak duyarlı bir konak *H.pilori* indüklü mide kanseri için gereklidir.

H.pilori, normal mide epitelinin atrofik gastritten intestinal metaplaziye, displaziye ve karsinomaya kadar ilerlemesini destekleyen olayların tetikleyicisi olarak gösterilmektedir (Kim ve diğ., 2011; Hofman ve diğ., 2004).

Kontrol ve mide kanserli hasta gruplarının karşılaştırılmasıyla yapılan çalışmalarda *H.pilori* enfeksiyonuna sahip olma oranının hasta gruplarında daha yüksek olduğu vurgulanmıştır (Forman, 1995; Nomura ve diğ., 1991). *H.pilori* seropozitifliği ve bakterinin bulunduğu mide mukoza örneklerinin histopatolojik incelenmesiyle yapılan çalışmalar *H.pilori*'nin mide kanseri gelişimindeki rolünü kanıtlar niteliktedir (Blaser, 1998).

H.pilori üreaz, proteaz, fosfolipaz, amonyum ve asetaldehit gibi mide mukozal hasara yol açan birçok ürün salgılar (Wroblewski ve diğ., 2009).

Bakteri üreaz enzimi ile lokal pH artışına neden olarak gastrin miktarını kontrol eden mekanizmayı bozar ve böylece kan gastrin düzeyi yükselerek hasara yol açar (Ruiz ve diğ., 1996).

Oksidatif stres üretimi, *H.pilori* enfekte konakta virulans bir faktör gibi tanınır. *H.pilori* enfeksiyonu, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin üretimini tetikler ve konağın antioksidan savunma mekanizmasını baskılayarak oksidatif DNA hasarına yol açar. Ancak antioksidan enzimlerin bir çeşidine sahip olan *H.pilori*, oksidatif stresten kurtulmuş olur ve hasar sadece duyarlı konağın mide mukozasıyla sınırlı kalır (Suzuki ve diğ., 2012).

Bir araştırmada, normal midede güçlü bir antioksidan olan askorbik asit salgılanırken *H.pilori* enfeksiyonlu konağın midesinde askorbik asit salgısının azaldığı ve midedeki tüm serbest C vitamininin, inaktif dehidroaskorbik asit şeklinde bulunduğu gösterilmiştir (Houben ve diğ., 1995).

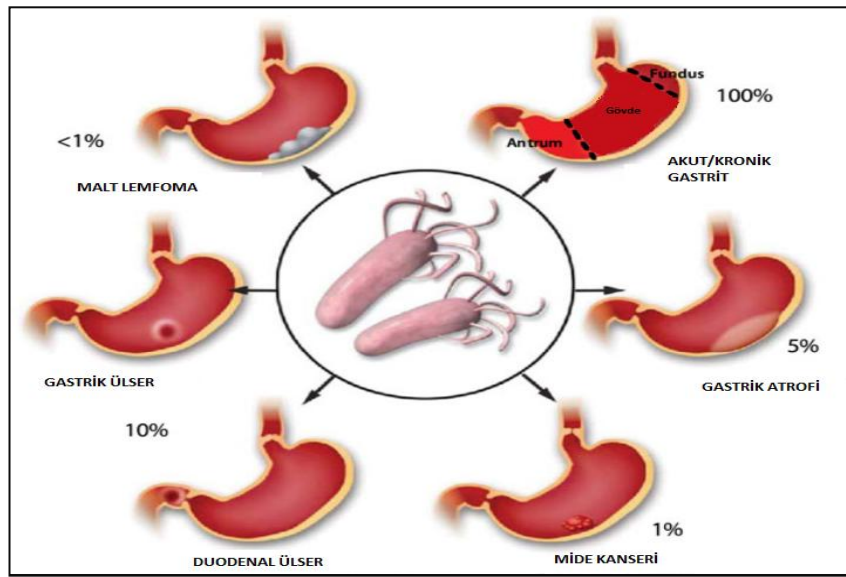
H.pilori direk olarak mutajenik olmasa da inflamatuvar araçlarla ya da yanlış eşleşme onarım yollarını kötü etkileyerek mutajenik maddelerin oluşumuna katkıda bulunur (Yao ve diğ., 2006). Ayrıca *H.pilori* enfeksiyonu onarım aktivitelerini azaltırken endojen DNA hasarını arttırarak ve hem mitokondriyal hem de nükleer DNA mutasyonlarını indükleyerek mide kanseri gelişimini destekler. *H.pilori* enfeksiyonunun indüklediği anormal DNA metilasyonunun mide kanseri için önemli bir risk faktörü olması da *H.pilori* 'nin mide kanseri gelişiminde rol oynadığını gösteren kanıtlar arasındadır (Perrin ve diğ., 2010).

Epidemiyolojik kanıtlar, cagA patojenite adası (cagPAI) ve vakuol oluşturan sitotoksin vacA genini taşıyan *H.pilori* suşlarının daha tehlikeli olduğunu gösterir (Hatakeyama, 2004; Atherton ve diğ., 1997).

vacA geninin s1a, s1b, s1c veya s2 allellerinden birini içeren amino ucu sinyal bölgesi (s) ve m1a, m2a veya m2b allellerinden birini içeren orta (middle-m) bölgesinin nükleotid dizilerine göre farklı allelik varyantları bulunmaktadır. Farklı s ve m allelleri rekombinasyonla bir araya gelir gelerek s1/m1, s1/m2 ve s2/m2 genotiplerini oluşturmaktadırlar (Atherton ve diğ., 1995; Doorn ve diğ., 1998).

Yapılan çalışmalarda s1 ve m1 allellerinin daha yüksek toksin seviyesi ve ağır epitel hasarı oluşturma potansiyeline sahip olduğu görülmüştür. Batı toplumlarında yapılan çalışmalarda s1/m1 suşlarının gastroduodenal hastalık ve mide kanseriyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (Torres ve diğ., 2007).

cagPAI 40 kb'lik bir genom segmentidir ve cagA'yı da içeren yaklaşık 30 geni kodlar. Virulent cagA pozitif suşları, kardia olmayan mide kanserinin intestinal ve difüz tiplerinin her ikisinin de risklerini artırır ancak kardia kanser riskini arttırmaz. cagA proteinleri, SRC kinaz ailesi tarafından tirozin fosforilasyonuna uğradığı mide epitelyum hücrelerinin içine girer. Fosforillenmiş cagA hücre büyümesi ve yayılması için pozitif sinyal veren bir fosfotaz olan SHP2'ye spesifik olarak bağlanır ve aktive eder. Böylece *H.pilori* cagA üzerinden büyüme faktörü reseptörlerini aktive eder, proliferasyonu artırır, apoptozu inhibe eder, invazyon ve anjiyogenezi destekleyerek kanserleşmede rol oynar (Hatakeyama, 2004).



Şekil 1.2. *H.pilori* enfeksiyonunun sonuçları (Sachs, 2012' den adapte edilmiştir).

1.2.2.3 Multifokal atrofik gastrit

Multifokal atrofik gastrit midenin iç yüzünü döşeyen mukoza tabakasının epitelyum hücrelerinin ve salgı bezlerinin bölge bölge kaybı ile sonuçlanan kronik iltihabıdır ve *H.pilori*, aşırı tuz alımı, sigara kullanımı, nitrat alımı, kötü beslenme gibi faktörlerin de etkisiyle zamanla intestinal tip mide kanserine dönüşebilmektedir (Huang ve diğ., 2003).

1.2.2.4 Epstein-Barr virüs (EBV)

Mide kanseri tanısı konulmuş hastalarda EBV yani İnsan Herpes virüs tip 4 (HHV-4) antikoru rastlanması araştırmacıları bu virüsle mide kanseri arasındaki ilişkiyi araştırmaya yöneltmiştir.

Yapılan bir çalışmanın sonucunda EBV antikoru pozitif olan sağlıklı kişilerin, EBV negatif olanlara göre 4 kat daha fazla risk altında olduğu görülmüştür (Levine ve diğ., 1995).

1.2.2.5 Diyet

Mide kanserinin gelişiminde, beslenme alışkanlığı önemli bir yer tutmaktadır. Tuzlu gıdaların aşırı, sebze ve meyvaların ise yetersiz tüketilmesinin mide kanseri üzerine olumsuz etkisi olduğu ifade edilmektedir (Kono ve Hiroto, 1996).

Mangalda aşırı pişmiş ve tuzda bekletilmiş etler karsinojen olarak kabul edilmektedir çünkü yapılarında benzopren gibi polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) bulundurlar (Kapan, 2001).

Mide kanseri insidansının yüksek olduğu bölgelerde tuz tüketimi oranının da yüksek olması tuzun kanser üzerine etkisinin araştırılmasını sağlamıştır (Charnley ve Tannenbaum, 1985). Kurutulmuş tahıllar ve gıda koruyucularında kullanılan nitratin ve et ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanılan nitritin midede intestinal metaplaziye yol açarak mide kanseri oluşumuna katkıda buldukları gösterilmiştir (Mowat ve diğ., 1999; Demirer ve diğ., 1990).

1.2.2.6 Radyasyon

Radyasyonun mide kanseri riskini 3 kat arttırdığı ifade edilmektedir (Kelley ve Duggan, 2003). Hodgkin lenfoma hastalığı nedeniyle radyoterapi alan çocuklarda ileriki yaşlarda mide kanseri gelişimi gözlenmiştir (Lin ve Teitell, 2005; Tarbl ve diğ., 1993).

1.2.2.7 Sigara ve Alkol Kullanımı

Sigara kullanımı ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları farklılık göstermektedir. Çalışmaların bir kısmı sigaranın mide kanseri üzerine etkisinin doza bağlı olarak arttırıcı olduğunu gösterirken bir kısmı da sigara ve mide kanseri arasında ilişki kurulamayacağını göstermektedir (Tredaniel ve diğ., 1997; Kelley ve Duggan, 2003). Alkol kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalarda ise mide kanserine yakalanma riskinin alkol kullananlarda, kullanmayanlara göre 2 kat fazla olduğu gösterilmiştir (Kelley ve Duggan, 2003).

1.2.2.8 Pernisiyöz anemi

Pernisiyöz anemi sonucu anaerobik bakteriler midede aşırı çoğalır ve safra asitleri konsantrasyonunu arttırırlar. Bunun sonucu olarak gelişen kronik gastrit zemininde displazi ve karsinom olasılığı artmaktadır (Kelley ve Duggan, 2003).

1.2.2.9 Sosyoekonomik Durum

Mide kanseri insidansı sosyoekonomik seviyesi düşük olan ülkelerde gelişmiş olanlara göre 2 kat daha fazladır (Kelley ve Duggan, 2003; Leonarda ve diğ., 2000). Bu durum kötü beslenme ve yaşam şartlarına bağlanmaktadır.

1.2.2.10 Meslek

Maden, kömür, tekstil, seramik, metal endüstrisi, boya sanayisi, kimyasal, lastik ve petrol sanayisi gibi çalışma şartları ağır olan ve karsinojenlere maruz kalınan mesleklerde çalışan işçilerde mide kanseri insidansı yüksektir (Allum ve diğ., 1989).

1.2.2.11 Kişisel Özellikler

Cinsiyet: Mide kanseri insidansı yüksek veya düşük olan tüm ülkelerdeki erkeklerde mide kanserine kadınlara göre 2,5 kat daha fazla rastlanmaktadır. Bu durum mide kanseri tiplerinde oransal olarak farklılık gösterir. İntestinal tipte erkeklerde 2 kat daha fazla rastlanırken diffüz tipte mide kanserine rastlama oranı aynıdır (Landis ve diğ., 1999).

Kan Grubu: A kan grubuna sahip bireylerde diğerlerine göre mide kanseri riski daha yüksektir (Kelley ve Duggan, 2003; Landis ve diğ., 1999).

1.2.2.12 Aile Hikayesi

Ailesel geçmiş bireyde direk mide kanseri oluşmasını etkilemese de yatkınlığı arttırıcı bir nedendir. Yapılan araştırmalarda ailesinde mide kanseri hastası olan bireylerde riskin 2-3 kat arttığı belirtilmektedir (La Vecchia, 1993; Zanghieri ve diğ., 1990).

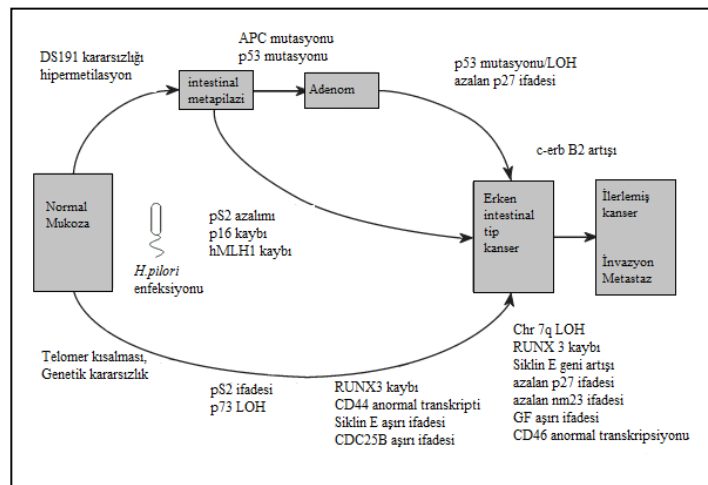
1.2.3. Mide Kanserinin Moleküler Mekanizması

Mide kansinomasının gelişmesinde bakteriyel, çevresel ve kişisel genetik faktörler etkilidir. Mide kansinogenezinin gelişmesinde, onkogenlerde, tümör süpresör genlerde, hücre adhezyon moleküllerinde ve hücre döngüsü düzenlenmesinde anormallikler söz konusudur (Tablo 1.1).

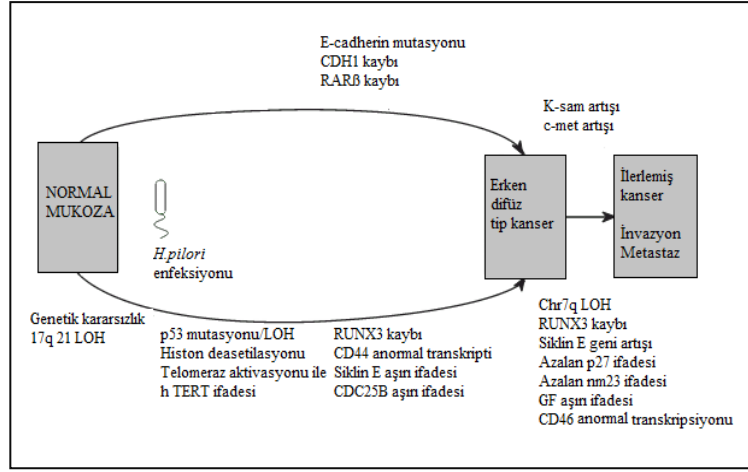
Tablo 1.1. Mide kanserinin moleküler mekanizmasındaki etkili genler ve moleküller (Smith ve diğ., 2006' dan adapte edilmiştir).

Onkogenler	Tümör süpresör genler	Hücre adhezyon molekülleri ve metastaz ilgili genler	Hücre döngüsü düzenleyicileri	Mikrostellit ve kromozomal instabilite	Büyüme faktörleri ve sitokinler
c-met geni	p53	E-kaderin	Siklin-E	MMR genleri	EGF ailesi
k-sam onkogeni	p73	β -katenin	CDK		NRP-1
c-erbB2 protoonkogeni	pS2	γ -katenin			
K-ras protoonkogeni	APC geni	CD44			IL-1 α
	RAR β geni	nm23			IL-6
	RUNX gen ailesi	MMP ve TIMP genleri			IL-8
	BRCA1 geni				

Difüz ve intestinal tip mide kanserinin gelişiminde etkili olan yollar arasında farklılıklar vardır (Şekil 1.3. ve 1.4.) (Smith ve diğ., 2006). Ayrıca genetik kararsızlıklar ve büyüme faktörlerinin değişiklikleri mide kansinogeneziyle ilgili yolların karmaşıklaşmasına katkıda bulunur (Smith ve diğ., 2006).



Şekil 1.3. İntestinal tip mide kanseri gelişiminde rol alan genetik ve epigenetik değişiklikler (Smith ve diğ., 2006' dan adapte edilmiştir).



Şekil 1.4. Difüz tip mide kanseri gelişiminde rol alan genetik ve epigenetik değişiklikler (Smith ve diğ., 2006' dan adapte edilmiştir.)

1.2.3.1. Onkogenler

C-met Geni: Hepatosit büyüme faktörü/dağılım faktörü için bir reseptör kodlayan c-met geni, intestinal tip mide kanserinin %19'unda ve difüz (yayılan) tip mide kanserinin %39'unda amplifiye olur. Mide karsinomların çoğunluğu 7,0 kb ve 6,0 kb şeklinde iki farklı c-met transkripti ifade eder. 6,0 kb transkriptin ifadesini, tümör evreleme, tümör invazyonunun yoğunluğu ve lenf nodu metastazıyla ilişkilidir (Kuniyasu ve diğ., 1992; Kuniyasu ve diğ., 1993).

K-sam Onkogeni: K-sam onkogeni mide karsinomlarında sık sık amplifiye olduğu gibi en az dört transkripsiyonel çeşidi vardır. Bunlardan biri olan TipII, keratinosit büyüme faktörü için reseptör kodlar. Bu genin aşırı ifadesi mide kanserinde daha zayıf prognoz ile ilişkilidir (Kato ve diğ., 1992).

c-erbB2: Diğer bir protoonkogen olan bu gen, intestinal tip mide kanserin gelişiminde rol oynarken difüz tipte rol oynamaz ve bu genin aşırı ifadesi karaciğer metastazı ve daha düşük prognoz ile ilişkilidir (Yokota ve diğ. 1988, Oda ve diğ., 1990).

K-ras: K-ras, K-ras proto-onkogeni ile kodlanan ve normal hücre çoğalması sinyal iletiminde görev alan bir protein olup mutasyona uğradığı takdirde güçlü bir onkogen haline gelmektedir. K-ras kendisine GTP molekülü bağlıyken aktif ve GDP molekülü bağlıyken inaktif olan iki halde bulunur. GTP' nin GDP molekülü ile yer değiştirilmesi GEF proteini ile gerçekleşir.

K-ras geninin 12. ve 13. DNA kodon dizisinde meydana gelen mutasyonlar, K-ras proteininin GTP' ye bağı kalma halinin uzamasına sebep olur ve hücre içerisinde normalden fazla oranda hücre çoğalma sinyali üretilmiş olur. K-ras' ın mutasyonu intestinal tip mide adenokarsinomasında ve intestinal metaplazi ve adenom prekürsör lezyonlarda görülür. Bu mutasyonun insidansı düşüktür ve difüz tip karsinomların bir özelliği değildir (Lee ve diğ., 1995; İsoğaki ve diğ., 1999).

1.2.3.2. Tümör Süpresör Genler

p53: Tümör süpresör gen p53 kayıp (missens) mutasyonları, çerçeve kayması (frameshift) ve heterozigotluk kaybı (LOH) ile sık sık mide karsinomlarında inaktif olur. Bu durum histolojik alt tipi ne olursa olsun mide kanserlerinin %60' ında meydana gelir ve intestinal metaplazi, displazi ve adenomlar gibi öncü lezyonlarda sık sık gözlenir (Sano ve diğ., 1991; Tamura ve diğ., 1991).

Mutasyonlar intestinal tip karsinomlarda A:T kısımlarında ve difüz tip karsinomlarda N-nitrozaminlerin neden olabildiği GC: AT transisyonuyla yaygın olarak meydana gelir (Yokozaki ve diğ., 1992; Sugimura ve diğ., 1970). p53 geninin ekson 4'ünün 72. kodonundaki mutasyonla distal mide kanserinin artan riskiyle ilişkilendirilmiştir (Perez ve diğ., 2005)

p73: p53 ile ilgili bir tümör süpresör gen olan p73 'deki LOH mide kanserlerinin %38' inde tespit edilmiştir ve bu genin değişiklikleri pS2 ifadesiyle foveolar tip mide kanserinin baskın bir özelliğidir (Yokozaki ve diğ., 1999).

pS2: Mide foveolar epitelyum hücrelerinde normal olarak ifade edilecek bir mideye spesifik trefoil faktördür. pS2 geninin promotor bölgede DNA metilasyonu ile kaybı veya azalması mide adenomlarında ve intestinal metaplazide meydana gelir. Bu da bu sürecin intestinal mide kanseri gelişiminde erken evrede önemli olabileceğini gösterir (Masiakowski ve diğ., 1982).

APC: Başka bir tümör süpresör gen olan APC geni mutasyonları intestinal alt tip mide karsinomasında gözlenir ve APC geni missense mutasyonları intestinal tipte yaygınken difüz tip kanserlerde gözlenmez. APC genindeki somatik mutasyonlar mide adenomalarının % 20-%40'ında ve intestinal metapilazilerin %6'sında gözlenir. (Nakatsuru ve diğ., 1991; Nakatsuru ve diğ., 1992).

RARβ: Diğer bir tümör süpresör olan nükleer retinoik asit reseptör β (RARβ) 'nın hipermetilasyonu intestinal mide kanserlerinin %64'ünde azalan ifadesiyle gözlenir ama bu durum difüz alt tipte gözlenmez (Hayashi ve diğ., 2001).

RUNX Gen Ailesi: RUNX gen ailesi RUNX1/AML1, RUNX2 ve RUNX3 diye üç üyeden oluşmaktadır (İto ve diğ., 2004). RUNX ayrıca heterodimerik transkripsiyon faktörü olan polyomavirüs bağlanma arttırıcı protein 2 (PEBP2) /çekirdek bağlayıcı faktör (CBF) Runt domain transkripsiyon faktörünün bir DNA-bağlama alt ünitesini kodlar. RUNX3 mide epitelinde hücre proliferasyonunun bastırılmasında önemlidir ve mide karsinogeneziyle ilişkilidir. Promotor CpG adacıklarının hipermetilasyonu RUNX3 kaybı mide kanserlerinin %64'ü dahil birkaç değişik kanser çeşidinde gözlenmektedir. RUNX3 metilasyonu ayrıca kronik gastritlerin %8'inin, intestinal metaplazinin %28'inin ve mide adenomalarının %27'sinin bir özelliğidir. Bu da RUNX3'ün mide karsinogeneziinde epigenetik gen susturulmasında bir hedef olduğunu gösterir (Kim ve diğ., 2004; Sakakura ve diğ., 2005).

1.2.3.3 Hücre Adhezyon Molekülleri ve Metastaz ilgili genler

E-kaderin: Hücre adhezyon molekülleri difüz tip mide karsinomlarının %50'sinde oluşan E-kaderin gen mutasyonlarıyla tümör süpresör gibi görev yapabilir (Becker ve diğ. 1994). Bu homofilik hücre adhezyon molekülleri, hücre polaritesinin kurulması, doku morfolojisinin sürdürülmesi ve normal hücrelerde hücreler arası diferansiyasyonla interselüler adhezyonda önemli role sahiptir (Wijnhoven ve diğ., 2000; Smith ve diğ. 1997). E-kaderinin ifadesindeki değişiklikler hücre adhezyonuna direkt etkiye sahiptir ve bundan dolayı E-kaderin kanser gelişiminde önemli bir basamaktır. E-kaderin mutasyonları ekzon 8 veya 9'u etkiler, dağınık morfoloji oluşumunu indükler, hücreler arası adhezyonu azaltır ve difüz mide kanserlerinde hücreler arası hareketliliği artırır (Handschuh ve diğ., 1999).

β -katenin ve γ -katenin: β -katenin ve γ -katenin' deki mutasyonlar da mide kanser hücre hatlarında gözlenmiştir. Bu mutasyonlar E-kaderin mutasyonlarıyla beraber, difüz tip mide kanserinin gelişiminin ilerlemesine dahil olmaktadır (Kawanishi ve diğ., 1995).

CD44: Anormal CD44 transkripti, intestinal ve difüz alttıpler arasında değişen anormal transkript modelleri mide karsinomalarıyla ve metastaz ile sık sık ilişkilidir (Yokozaki ve diğ., 1994). Tüm mide kanseri hücre hatları ve dokuları intron 9 sekansını içeren anormal CD44 transkriptini içerir (Higashikawa ve diğ., 1996). Normal mukozada olmayan bu özellik mide intestinal metaplazilerinin %60'ında gözlenir (Yoshida ve diğ., 1995).

Osteopontin(OPN) CD44'ün bir protein ligantıdır ve mide karsinomaların %73'ünde aşırı ekspredir. Birlikte ifade olduğunda CD44v9 ile lenfotik invazyon ve metastazı korele eder (Weber ve diğ., 1996).

nm23: nm23'ün azalan ifadesi c-myc transkripsiyonel aktivasyonu ve galaktosid bağlama proteini galaktin-3 ile ilgilidir. Ayrıca metastatik mide karsinomasında da gözlenmiştir (Nakayama ve diğ., 1993).

1.2.3.4 Hücre Döngüsü Düzenleyicileri

Siklin-E: Mide karsinomlarının %15-%20'sinde siklin-E' nin aşırı ifadesiyle karşılaşmaktadır ve siklin-E'nin gen amplifikasyonu veya aşırı ifadesi lenf nodu metastazı ile ilişkilidir (Akama ve diğ., 1995). E2F transkripsiyon faktörü ailesi G1/S transisyonunda siklin/CDK'ların önemli bir hedefidir.

E2F'nin aşırı ifadesi primer mide kanserlerinin %40'ında gözlenir ve siklin-E ile birlikte ifade olma eğilimindedir. E2F geninin gen amplifikasyonunun ve anormal ifadesinin mide kanseri gelişimine izin veriyor olabileceği düşünülmektedir (Suzuki ve diğ., 1999).

1.2.3.5 Mikrosatellit instabilitesi (MSİ) ve Yanlış eşleşme tamir genleri (MMR)

Mikrosatellit instabilitesi (MSİ) DNA yanlış eşleşme tamir eksikliğinin bir niteliği olup mide karsinogenezindeki yollardan biridir. Mikrosatellitler insan genomuna dağılmış kısa DNA sekans tekrarlarıdır ve MMR'lerin (hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2 ve MSH6/GTBP) hücre hattı mutasyonlarıyla ilgili mide kanseri olgularının hemen hemen hepsinde meydana gelirler (Thibodeau ve diğ., 1996; Keller ve diğ., 1996). Tümör hücrelerindeki DNA yanlış eşleşme tamir mekanizmasında meydana gelen hatalar bu tekrarların genişlemesine ve kısalmasına neden olur.

MMR'lerden biri olan hMLH1'in epigenetik inaktivasyonunun neden olduğu MSİ, sporadik intestinal tip kanserlerin % 15-39'unda, promotor hipermetilasyonunun neden olduğu hMLH1 kaybıyla ilişkili olan kanserlerin %70'inde gözlenmiştir. Böyle MSİ' li intestinal tip kanserler yaşlı hastalarda sık meydana gelir (Fleisher ve diğ., 1999). D1S191 lokusunun MSİ' si intestinal metaplazilerin %20'sinde ve intestinal tip mide kanserinin %40'ında gözlenmiştir. MSİ'li difüz tip kanserler hMLH1- hMLH2 'nin hücre hattı mutasyonu olmaksızın genç hastalarda daha yaygın olarak gözlenir (Semba ve diğ., 1998).

1.2.3.6 Büyüme Faktörleri ve Sitokinler

EGF Ailesi: Mide kanseri hücreleri otokrin, parakrin, juxtakrin mekanizmaları üzerinde çalışan sitokinler ve büyüme faktörlerinin geniş bir dizisini ifade ederler. Bu düzenleyicilerin tekrar ifadesini histolojik alt tiplere dayanarak değiştirir. İntestinal tip karsinomada EGF, TGF α , İGF II ve bFGF'yi içeren EGF ailesinin aşırı ifadesi gözlenirken, difüz alt tipte TGF β , İGFII ve bFGF' nin aşırı ifadesi gözlenir (Tahara ve diğ., 2004). EGF/TGF α ' nın birlikte ifadesi EGFR ve cripto biyolojik malignensi ile ilişkilidir. Bu faktörler metalloproteinazları indükler (Yasui ve diğ., 1988). Criptonun aşırı ifadesi intestinal metaplazi ve mide adenoması ile sık ilişkilidir (Kuniyasu ve diğ., 1991).

NRP-1: Mide kanseri hücreleri Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) reseptör 2 endotel hücreleri için bir ko-reseptör olan nötrofilin-1 (NRP-1)'i eksprese eder. EGF, NRP-1 ve VEGF ifadesini indükler bu da mide kanserlerinde NRP-1 ifadesinin EGF/EGFR sistemiyle yakından ilişkili olduğunu düşündürür (Akagi ve diğ., 2003).

IL-1 α , IL-6 ve IL-8: İnterleukin-1 α (IL-1 α) inflamatuvar hücreler ve mide kanseri hücreleri tarafından üretilir ve mide karsinoma hücreleri için otokrin büyüme faktörü gibi görev yapar (Ito ve diğ., 1993). IL-1 α ve EGF/reseptör sistemi arasındaki etkileşim mide kanseri büyümesini stimüle eder.

İnterleukin-6(IL-6) ayrıca mide kanseri hücrelerini stimüle etmek için otokrin şekilde hareket eder. IL-1 α ve IL-6'nın her ikisinin ifadesi de tümör hücrelerince stimüle edilir (Kitadai ve diğ., 1998) Kemokinlerin CXC ailesinin bir üyesi olan İnterleukin-8(IL-8), sitokin ve reseptörlerinin her ikisini de ifade eden mide tümörlerinin %80'ninden fazlasında sayısız role sahiptir (Kitadai ve diğ., 2000).

Negatif büyüme faktörü TGF β mide karsinomada özellikle üretken fibrozisli difüz tip karsinomalarda sık sık aşırı ifade olur (Yoshida ve diğ., 1989). VEGF, bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve IL-8 gibi anjiyojenik faktörler tümör hücrelerince üretilir ve mide karsinoma dokusu içinde neovaskülerizasyonla sonuçlanabilir. bFGF difüz mide karsinomayla daha güçlü bir ilişki içindeyken, VEGF intestinal alt tip olan mide karsinomasının progresyonunu ve anjiyogenezini teşvik eder (Yamamoto ve diğ., 1998; Tanimoto ve diğ. 1991).

HGF/SF (hepatosit büyüme faktörü/scatter faktör) fibroblastlar gibi uyarılmış stromal hücreler tarafından üretilir ve morfojen veya mutojen gibi parakrin şekilde fonksiyon gösterir (Tahara, 2004).

1.2.3.7 Mikroribonükleik Asitler (miRNAs)

miRNA'lar, LOH'un olduğu bölgelerde, amplifikasyon bölgelerinde, kırılmalı kısımlarda ve ayrıca onkogen ve tümör supresör gibi iş gören immün yanıtları, metastazı, anjiyogenezi, diferansiyasyonu, apoptozu ve proliferasyonu içeren karsinogeneziyle ilgili önemli biyolojik süreçlerin birkaçını düzenleyen kanserle ilişkili genomik bölgelerde lokalizedir.

miRNA disregülasyonu mide kanseri patogeneziinde anahtar bir rol oynar. Çalışmalar mide kanserinde miR-21, miR-106a ve miR-17 gibi onkogen olarak iş gören miRNA'ların upregüle olurken, miR-101, miR-181, miR-449, miR-486, let-7a gibi tümör süpresör olarak iş gören miRNA'ların downregüle olduğunu göstermiştir (Ma ve Tao, 2012). miR-196a-2' nin polimorfizmi de mide kanserinin artan riskiyle ilişkili bulunmuştur (Peng ve diğ., 2010). *H.pilori* enfeksiyonunun ise tümör süpresör olan miR-124a-1, miR-124a-2 ve miR-124a-3'ün hipermetilasyonu ile tümör süpresör miRNA let-7 ve miR-106b' yi içeren kanser ilişkili miRNA'ların disregülasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Matsushima ve diğ., 2011; Ando ve diğ., 2009).

1.2.3.8 Epigenetik Değişiklikler

Mide kanserinde tanımlanan çeşitli CpG adaları metilatör fenotipleri bulunmaktadır (Park ve diğ., 2010). İnflamatör düzenleyicilerin üretimine, temel besinlerin metabolizmasına ve hücre döngüsü kontrolüne katılan genlerin promotör hipermetilasyonu *H.pilori* enfeksiyonlarında hem de mide kanserinde tanımlanmıştır (Zabaleta, 2012).

Meta-analizler mide kanserinde 77 genin anormal metilasyonunu göstermektedir ki bu DNA metilasyonlarının prognoz ve risk predikasyonu için belirleyici olabileceği düşünülmektedir (Sapari ve diğ., 2012). Epigenetik değişiklikler miRNA deregülasyonunda da önemli bir rol oynamaktadır (Ando ve diğ., 2009).

Bu genetik ve epigenetik değişiklikler mide mukozasının normal hücre sel homeostazisinde değişime yol açabilir. Özellikle birkaç regülatör yolaktaki bozulma apoptozdan kaçışa, invazyon ve metastaza yol açabilir.

1.3. Matris Metalloproteinazlar (MMP'ler)

Ekstraselüler matrisin (ESM) bileşenlerini yıkıma uğratan Zn^{+2} ve Ca^{+2} 'a bağımlı nötral endopeptidaz ailesi olarak bilinen MMP'ler; yıkımdan sorumlu birçok ekstraselüler matris proteini ile organogenez, büyüme ve doku dönüşümü sırasında uyum içinde çalışırlar. MMP'lerin normal bir yetişkin dokudan salınımı ve aktivasyonu sınırlıyken istenmeyen doku yıkımına neden olan inflamatuvar hastalıklar, tümör gelişimi ve metastaz gibi çeşitli doku patolojilerinde kayda değer bir yükselme izlenir (Brinckerhoff ve Matrisian, 2002).

Tümör yayılımı ve metastaz sürecinde, MMP'ler ve onların doku inhibitörleri (TIMP) doku invazyonunda ve ESM'nin yeniden düzenlenmesinde önemli rol oynar (Kohn ve Liotta, 1995). Ayrıca MMP'ler apoptozun ve proliferasyonunun düzenlenmesinde de rol oynar (Egeblad ve Werb, 2002).

Şu ana kadar insanda 24 adet MMP kimliklendirilmiş, 26 adet iyi tanımlanmış üye rapor edilmiştir. 23 insan enzim grubu kollajenaz, jelatinaz, stromelisin, membran-tip MMP'ler ve diğer MMP'ler olarak sınıflandırılırlar (Tablo1.2.). MMP'ler matris komponentlerine yapışmaları, aktivasyon göstermek için çinko iyonuna bağlanmaları, etki göstermeden önce bölünmeyle aktivasyon ihtiyacı, aile üyeleri arasında özel aminoasit dizilerinin korunması, TIMP'lerle enzimatik aktivitelerindeki azalmalarına göre tanımlanırlar (Birkedal-Hansen, 1993; Nagase ve Woessner, 1999). Normal bir organizmada MMP aktivitesi ile TIMP'ler arasında sürekli bir denge vardır (Lambert ve diğ., 2004). MMP ifadesini, gen transkripsiyonunu etkileyen faktörlerin etkisi altındaki çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullarda gelişen doku yeniden düzenlenmesi sırasında artar (Beaudeau ve diğ., 2004). Bu sırada MMP'lerin üretimi TIMP'lerin üretiminden fazla olabilir. Böylece MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki denge bozulur. Dengenin MMP aktivitesi yönüne kayması matrisin kontrolsüz olarak yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşumuna zemin hazırlar. İşte bu özellikleriyle MMP'ler tümör invazyonunda, metastazda ve anjiogenezde oldukça etkilidirler (Nagase ve Woessner, 1999).

Tablo 1.2. MMP enzimlerinin sınıflandırılması (Hoekstra ve diğ., 2001'den düzenlemiştir).

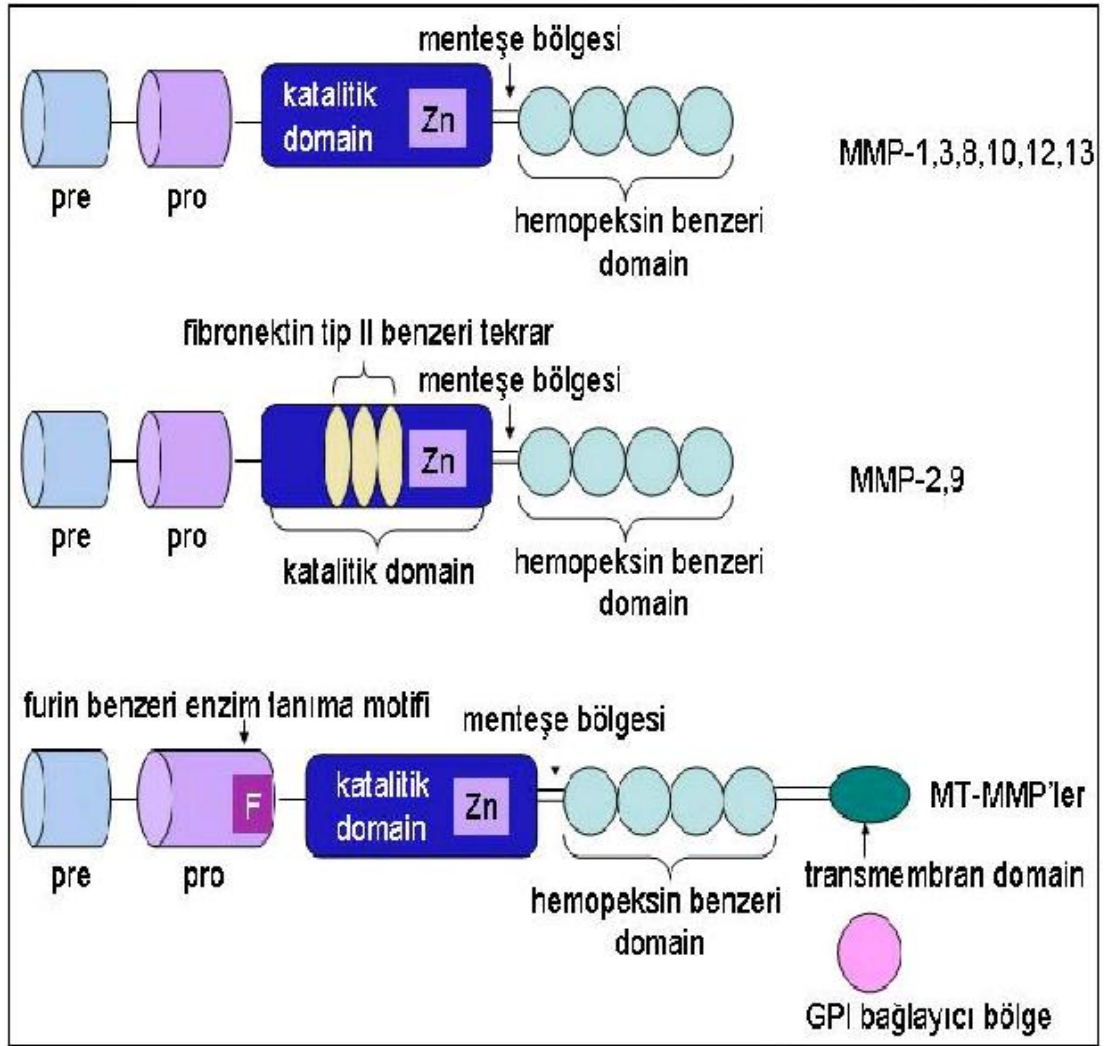
Grup adı	Tanımlayıcı isim	Numara	Temel substrat
Kollajenazlar	interstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajen Tip 1, 2, 3, 7 ve 10, jelatin, PG
	Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen Tip 1, 2, 3, PG
	Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajen Tip 1, 2, 3
	Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen I
Jelatinazlar	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, kollajen IV, V, VII;X, XI, elastin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin, kollajen IV, V, XIV, elastin, PG
Stromelisinler	Stromelisin 1	MMP-3	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 2	MMP-10	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 3	MMP-11	PG, laminin, elastin, entaktin, tenaskin, versikan, jelatin, kollajen III, IV, IX, X
Membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler)	MT1-MMP	MMP-14	Kollajen I, II, III, FN, laminin, VN
	MT2-MMP	MMP-15	Agrekan, FN, laminin, tenaskin
	MT3-MMP	MMP-16	Kollajen III, FN, jelatin
	MT4-MMP	MMP-17	Jelatin
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT6-MMP	MMP-25	Kollajen IV, fibrin, FN, jelatin
Diğerleri	Matrilisin 1	MMP-7	Serin proteaz inhibitörleri
	Metaloelelastaz	MMP-12	Kollajen I, IV, elastin, FN, jelatin, laminin, VN
	RASI-1	MMP-19	Kollajen IV, entaktin, FN, jelatin, laminin, tenaskin
	Enamelisin	MMP-20	Agrekan, amelogenin
	X-MMP	MMP-21	
	CA-MMP	MMP-23	
	Matrilisin 2	MMP-26	Kollajen IV, FN, jelatin, VN
	CMMP (Horoz)	MMP-27	
Epilisin	MMP-28		

PG: Proteoglikan, **FN:** Fibronektin, **VN:** Vitronektin

1.3.1. MMP'lerin Yapısı

MMP'ler bazı yapısal özellikler olarak birbirlerinden ayrılrsa da ortak yapısal özelliklere de sahiptirler. MMP'lerin tümü tipik olarak Amino ucunda pre-domain içerirler (Kuzuya ve İguchi, 2003, Vihinen ve Kahari 2002) Bu dizilim enzimi salgılanma için etiketler ve salgılanma sonrası kaybolur. İkinci bölge olan pro-domain enzimin latent formda kalmasını sağlar ve enzim aktivasyonunu takiben kaybolur. Bir sonraki kısım Zn^{+2} bağlayan bölgeyi içeren katalitik domaindir (Şekil 1.5.). Katalitik domain ek olarak yapısal bir Zn^{+2} iyonu ve 2-3 Ca^{+2} iyonu içerir. Bu bölge stabilite ve enzimatik aktivitenin oluşmasını sağlar (Nagase ve Woessner, 1999). MMP-7 ve MMP-26 dışındaki diğer bütün MMP'ler karboksil ucunda hemopeksin/vitronektin benzeri domain içerirler. Bu bölge aslında "hem" bağlayan bir peptittir. Ayrıca TIMP'lerin jelatinaz grubu MMP (MMP-2 ve MMP-9)'lere ve MMP-13'e bağlanması ile ilişkilidir (Visse ve Nagase 2003). Katalitik domaini hemopeksin benzeri domaine bağlayan peptid pirolinden zengin olup, menteşe bölgesi olarak adlandırılır. MMP-7 ve MMP-26 hemopeksin benzeri domain ve menteşe bölgesi bulundurmaz. Jelatinaz enzimleri katalitik bölümünde 3 adet fibronektin Tip 2 benzeri ilave bir domain bulundururlar. Bu kısım jelatinazların jelatin ve kollajene yüksek afinite ile bağlanmalarını sağlar, böylece proteolitik aktivitelerini artırır ve elastolitik aktivite için de temeldir (Murphy ve diğ., 1994)

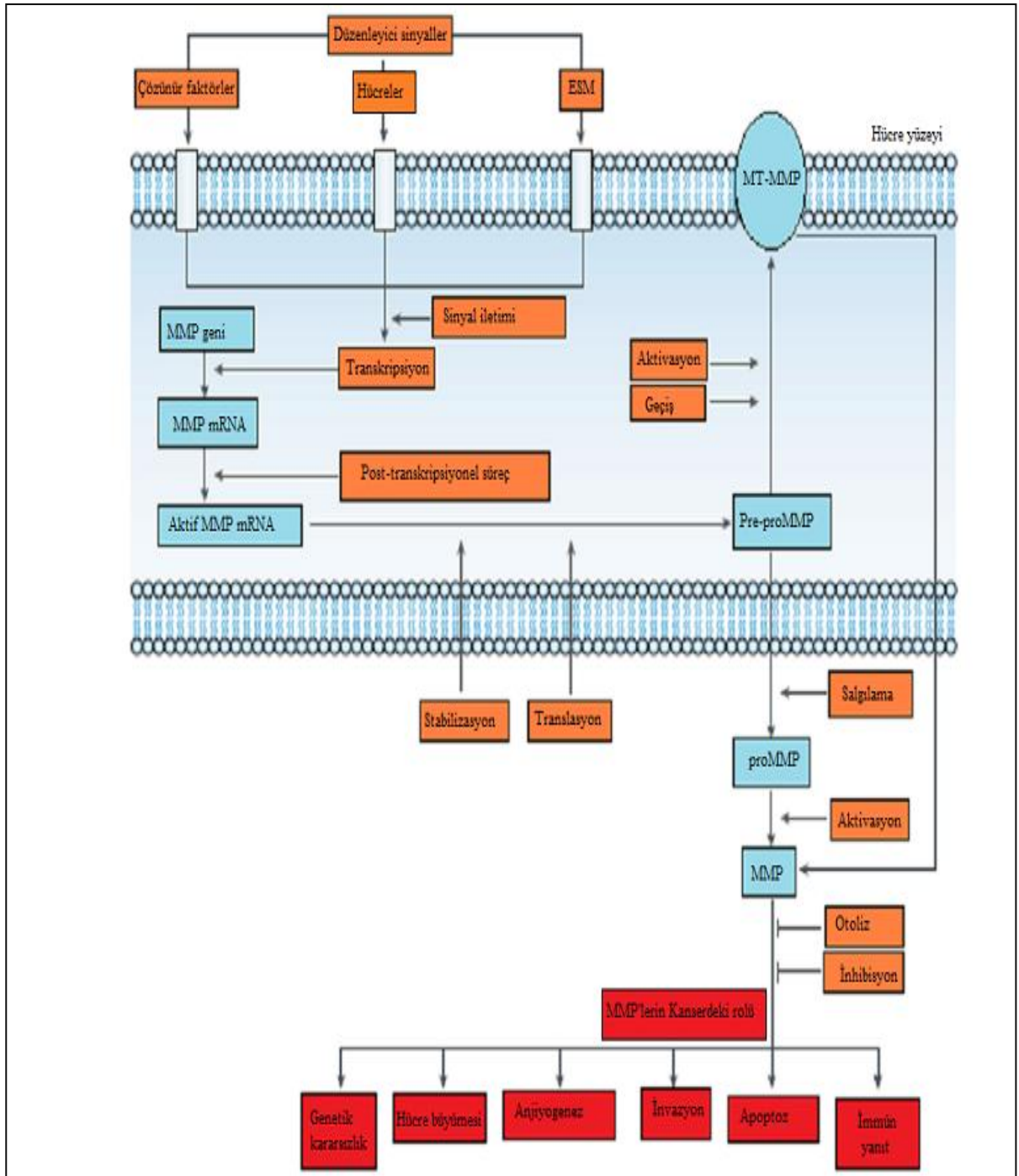
Bu yapısal özelliklere ek olarak MT-MMP'ler, MMP-11, MMP-23, MMP-28 pro-domain ile katalitik domain arasında yer alan ve enzimin hücre içi furin benzeri proteazlar tarafından tanınmasını sağlayan "furin benzeri enzim tanıma motifi" içerirler. MT-MMP'ler salgılanma öncesi bu motifi tanıyan proteazlar ile aktive edilirler. Ayrıca MT-MMP'lerden bazıları (MT1-,MT2-,MT3- ve MT5-MMP) karboksil ucunda transmembran domain içerirken bazıları da (MT4- ve MT6-MMP) glikozilfosfatidilinozitol (GPI) bağlayıcı bölge içerir (Kuzuya ve İguchi, 2003, Vihinen ve Kahari 2002).



Şekil.1.5.MMP enzimlerinin moleküler yapısı (Vihinen, 2002 ve Kuzuya, 2003'ten düzenlenmiştir).

1.3.2. MMP'lerin Katalitik Aktivitelerinin Düzenlenmesi

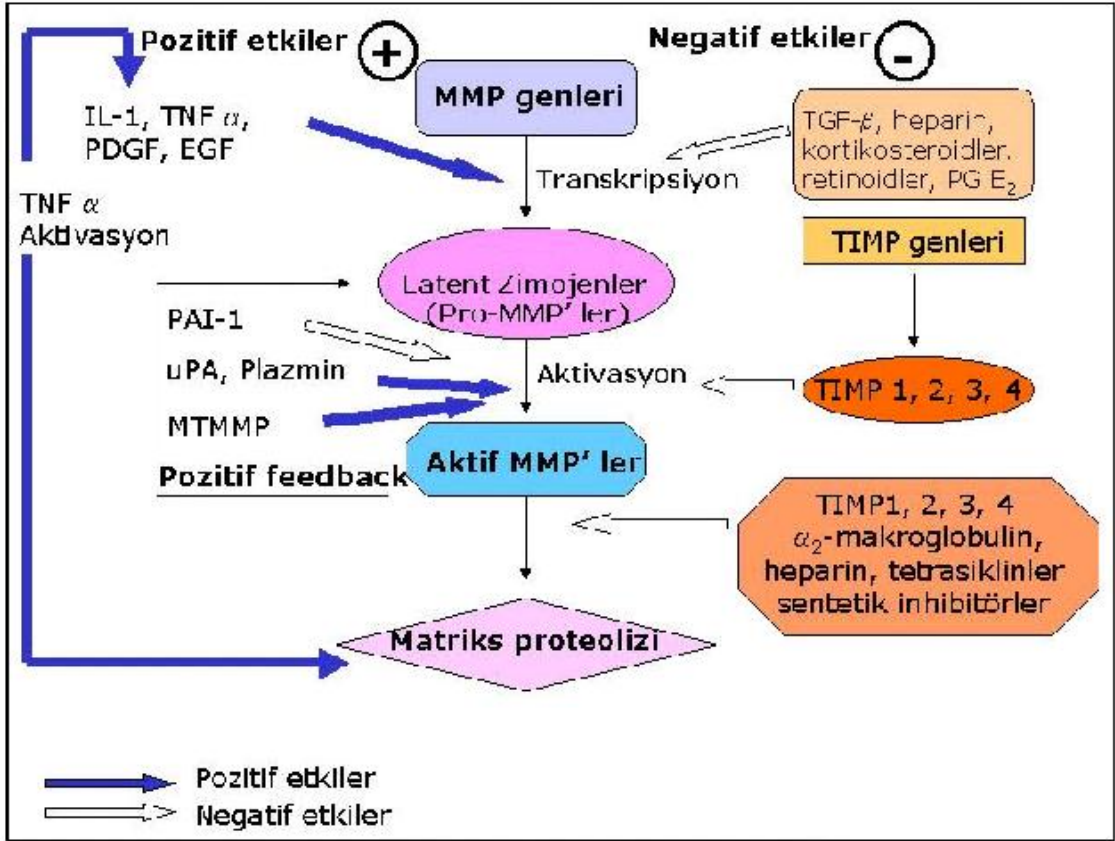
MMP'lerin katalitik aktivitelerinin düzenlenmesi transkripsiyon, pro-enzimin aktivasyonu ve aktif enzim inaktivasyonu olmak üzere üç basamakta gerçekleşir (Dollery ve diğ., 1995) (Şekil 1.6.).



Şeki.1.6. MMP ifade ve aktivasyon aşamaları, MMP 'lerin kanserdeki rolü (Overall ve Lopez-Otin, 2002' den adapte edilmiştir).

1.3.2.1 Transkripsiyon

TNF- α , IL-1 gibi inflamatuvar sitokinler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve EGF gibi büyüme faktörleri ve hormonlar MMP'lerin gen ifadesini indüklerken, TGF- β , heparin, kortikosteroidler, retinoidler, prostaglandin E2 (PGE2) ve diğer eikozanoidler ise MMP gen transkripsiyonunu inhibe ederler (Dollery ve diğ., 1995; Nagase 1997) (Şekil 1.7).

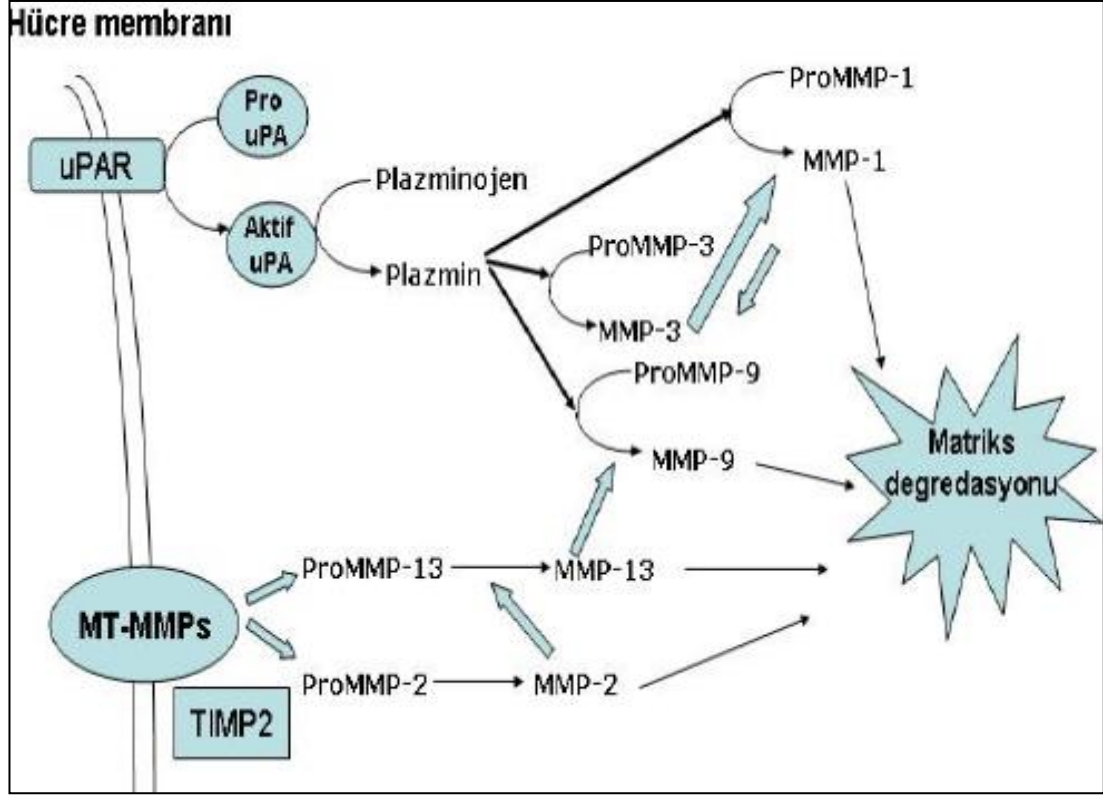


Şekil.1.7. MMP'lerin transkripsiyon regülasyonu (Dollery ve diğ., 1995'den adapte edilmiştir).

1.3.2.2. Pro-enzimin aktivasyonu

MMP'ler sentez edildikten sonra inaktif proenzim (zimojen) olarak salınırlar. Bazı plazmin bağımsız yollar bulunmasına rağmen MMP'lerin çoğunun fizyolojik aktivatörü plazmindir (Beaudeau ve diğ., 2004). İfadesi steroid hormonlar, hüresel onkogenler, sitokin ve büyüme faktörleri aracılığıyla düzenlenen ürokinaz-tip plazminojen aktivatörünün (uPA) aktif formu plazminojeni plazmine dönüştürür ve oluşan plazmin pro-MMP'leri aktif hale getir (McCawley ve diğ., 2000).

uPA aracılı aktivasyon kaskadında bir MMP'nin aktivasyonu, diğer bir MMP'nin aktivasyonuna yol açar, aktiflenen enzim bir diğer MMP'yi aktive edecek şekilde pozitif bir döngü oluşturur (Şekil 1.8). uPA plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), uPA üzerinde inhibitör etkilidir ve MMP'lerin plazmin aracılı aktivasyon kaskadı ile zıt yönde etkileşir. PAI-1 yetmezliğinin hasar sonrası neointima artışı stimüle ettiğinin gösterilmesi bu durumu desteklemektedir (Carmeliet ve diğ., 1997).



Şekil.1.8.ProMMP nin aktivasyon mekanizması (Beaudeau JL 2004'ten modifiye edilmiştir).

1.3.2.3 Aktif Enzim İnaktivasyonu

TIMP'ler, α 2-makroglobulin, heparin, tetrasiklinler ve sentetik inhibitörler aktif MMP inhibitörleridirler (Dollery ve diğ., 1995).

TIMP'ler MMP'lere non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin devamlılığını inhibe ederler. Böylece TIMP'ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar (Jacob, 2003; Lambert ve diğ., 2004). MMP'ler gibi vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilen TIMP'lerin, TIMP-1, 2, 3 ve 4 olmak üzere insanda bugüne dek tanımlanmış dört türü bulunmaktadır (Galis ve Khatri, 2002; Nagase, 1999).

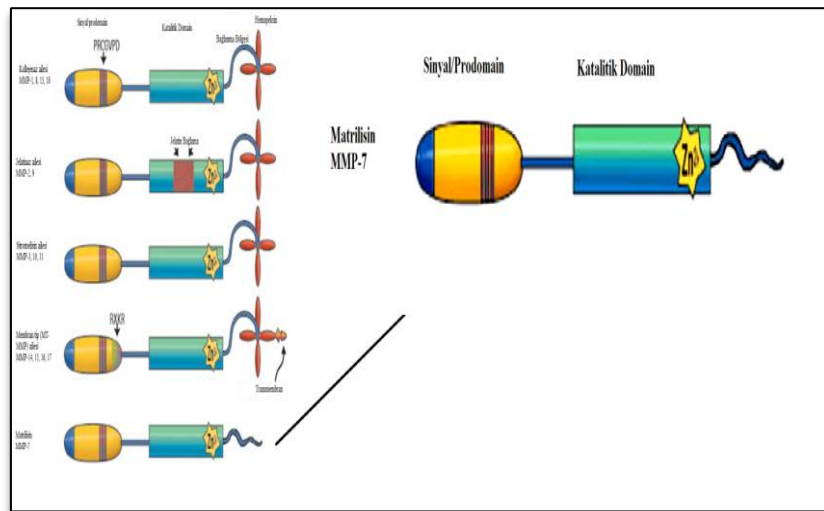
TIMP'ler MMP aktivitesini inhibe etme yönünden benzerlik gösterebilirler bile matristeki lokalizasyonları ve gen ifadesinin düzenlenmesi yönünden aralarında farklılıklar bulunmaktadır. Ayrıca değişik MMP türlerine göre de özgüllük gösterirler (Jacob ve diğ., 2001).

1.4. Matris Metalloproteinaz-7 (MMP-7)

Diğer adı matrilisin olan MMP-7 geni 11.kromozomun q kolunda 22. bölgede lokalize olan MMP genleri sınıfının bir üyesidir.

MMP-7, 1988 yılında uterus varsayılan metalloproteaz-1(PUMP-1) olarak tanımlanmıştır (Muller ve diğ., 1988). Bunun nedeni ilk olarak fare uterusuyla ilgili yapılan deneyler sırasında elde edilmiş olmasıdır. Ancak daha sonra adı Matris Metalloproteinaz-7 olarak değiştirilmiştir (Woessner ve Taplin, 1988). Ayrıca MMP'lerin stromilisin ailesi üyeleriyle çok ilişkisi olmamasına rağmen stromilisin ailesinin bir üyesi olduğu da düşünülmüştür (Muller ve diğ., 1988).

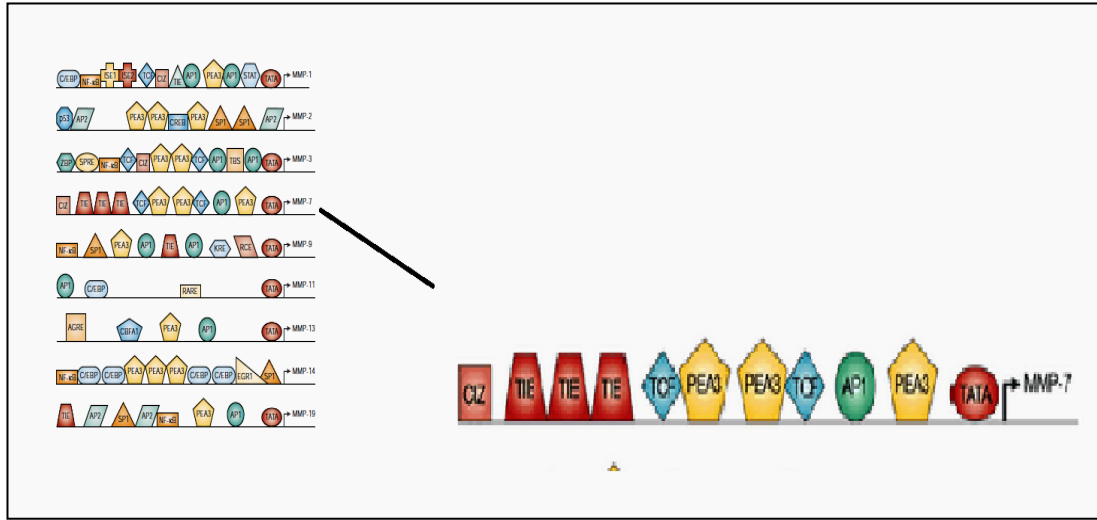
MMP-7 diğer MMP'ler gibi Karboksil ucunda hemopeksin benzeri kısım ihtiva etmez. Bu yüzden en küçük insan MMP' si olarak kabul edilir. Proenzim kısmının molekül ağırlığı 28 kDa, aktif form molekül ağırlığı 19 kDa kadardır (Şekil 1.9). Bu minimal yapı domaini, aktif enzimin sadece çinko bağlama katalitik domainini ihtiva ettiği ve MMP-7' nin bozulmamış kollejenleri bozmakta yetersizlik gösterdiği anlamına gelir ve hemopeksin benzeri domainin substrat tanımadaki önemini kanıtlar (Quantin ve diğ., 1989).



Şekil.1.9. MMP-7 ve diğer MMP'lerin yapılarının şematik olarak gösterimi (Overall ve Lopez-Otin, 2002'den modifiye edilmiştir).

MMP-7 kanser ilişkisi açısından MMP'ler arasında eşsiz bir yere sahiptir. Aslında kanser hücreleri tarafından üretilen birkaç MMP'den biridir (İi ve diğ., 2006). Bu durum MMP-7'nin promotör bölgesindeki düzenleyici elemanlar ile ilgilidir. Birtakım transkripsiyonel mediatörler MMP'lerin promotör bölgelerine onların ifadelerini düzenlemek için müdahale ederler.

MMP-7 geninin promotör bölgesi, diğer MMP'lerden ayrılarak, TATA (öncü dizi TATA-box), AP-1 (iki proto-onkogen ailesi jun ve fos'un heterodimerlerince şekillenen aktivatör protein-1) ve PEA3 (polyoma artırıcı A bağlama protein-3), TGFβ inhibitör elemanı TIE'ye bağlanan diğer bölgeler, MMP-7 ifadesi aktivasyonunu sağlayan CIZ (CAS-ilişkili çinko-parmak protein) ve DNA bağlama protein ailesinin bir üyesi olan Tcf/LEF-1 (T hücre faktörü/lemfoid artırıcı faktör) kısımlarını içerir (Gaire ve diğ., 1994; Behrens ve diğ., 1996) (Şekil 1.10).



Şekil.1.10. MMP-7 ve diğer insan MMP'lerinin promotör bölgelerindeki düzenleyici elemanlar (Overall ve Lopez-Otin, 2002'den modifiye edilmiştir).

AP-1 kısmı, birçok MMP'nin promotör bölgesinde lokalizedir ve bu MMP'lerin büyüme faktörleri ve sitokin indüksiyonları için gereklidir. MMP-7 promotörü için AP tüm transkripsiyonel aktiviteleri yerine getirmemesine rağmen malin tümörlerde MMP'lerin ifadelerinin upregülasyonu için AP-1 genel bir mekanizma sağlar.

PEA3 Ets transkripsiyon ailesine ait bir proteindir (Crawford ve diğ., 1999) ve matrilisin promotör bölgesindeki AP-1 kısmına bağlanır, TPA(12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate)'yı düzenlemek için AP-1 elemanı ile beraber çalışır. Bu durum EGF sorumluluğunda MMP-7 transkripsiyonel aktivitesinin artan uyarımıyla sonuçlanır (Gaire ve diğ., 1994).

TCF/LEF-1 ailesinin bir üyesiyle etkileşimde olan transkripsiyonel koaktivatör β-katenin de kanser çeşitlerinde MMP-7 promotör aktivitesinin düzenlenmesindeki bir diğer önemli faktördür. Her ne kadar intestinal tümörlerde β-kateninin aşırı ifadesi ve MMP-7 ifadesi arasında güçlü bir ilişki olsa da bu ilişki her

zaman gözlenmez ve β -kateninin MMP-7 'nin aktivitesini uyarmak için ilave faktörlere ihtiyacı olduğunda gözlenir.

β -katenin/TCF kompleksinin bağlı seviyesi çeşitli kanser hücre hatları arasında değişiklik gösterir. β -katenin/TCF kompleksinin düşük seviyelerini düzenleyen hücrelerde TCF-4 kısımları transkripsiyonel bir represör gibi davranabilir. Böylece bu represyon, β -katenin TCF-4 ile heterodimer oluşturmak için yeterli seviyeye ulaştığında yok edilir (Crawford ve diğ., 1999)

MMP-7' nin transkripsiyonunu upregüle etmek için β -katenin/TCF ile birlikte çalışan başka bir faktör de PEA3'tür. EGFR-düzenli yolların sinyalleriyle gerçekleşen PEA3 aktivasyonu kanser hücrelerinde MMP-7 ifadesini düzenler. EGFR aktivasyonu nükleer PEA3'ün birikimini sağlar ve değişik tümör tiplerinde çeşitli MMP'lerin promotörlerine bağlanmasını sağlar (Lynch ve diğ., 2004). Kanser hücrelerinde MMP-7 ifadesinin düzenlenmesi için β -katenin ve EGFR yolları beraber çalışır. Ayrıca β -katenin ve PEA3'ün her ikisinin ifadesinin de sabit olduğu insan ve fare intestinal tümörlerde MMP-7 ifadesi ortakdır (Crawford ve diğ., 2001).

Bütün bu promotör bölge düzenlenmelerinin yanı sıra MMP-7 genindeki polimorfizmler de çeşitli kanser tiplerinde ve başka hastalıklarda önem taşımaktadır. MMP-7 geninde birçok polimorfizm tanımlanmıştır (Tablo 1.3). Ancak bu polimorfizmler arasında en çok promotör bölgesindeki 181. ve 153. pozisyonlardaki polimorfizmler üzerinde durulmuştur.

Tablo.1.3. MMP-7 geni polimorfizmleri. 3' FR'': kodlama bölgesinden sonraki yan bölge, *: en sık incelenen polimorfizmler (Fadiel ve diğ., 2009'dan düzenlenmiştir)

MMP-7 Geni, SNP	BÖLGE	ALLEL
rs880197	Promotör	A/T
rs17098318	Promotör	G/A
rs11568818 *	Promotör (-181)	A/G
rs11568819 *	Promotör (-153)	C/T
rs11225307	Intron 3	A/G
rs17352054	Intron 5	A/C
rs495041	3' FR''	C/T
rs10895304	3' FR''	A/G
rs7935378	3' FR''	T/C
rs12184413	3' FR''	C/T
rs11225297	3' FR''	A/T

MMP-7'deki bu olası polimorfizmler çeşitli kanser tiplerinin gelişiminde, kalp damar hastalıklarının oluşumunda, arterioskleroz, ülseratif kolit ve romatoid artrit gibi hastalıkların oluşumunda rol alabilmektedir. MMP-7 promotör bölgesi 181. pozisyonundaki A/G polimorfizminin çeşitli kanser tipleriyle ilişkisinin yanı sıra kalp damar hastalıklarıyla olan ilişkisi de incelenmiş ve MMP-7'nin bu polimorfizminin çeşitli kanser tiplerinin yüksek riskini tahmin etmek için bir marker olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Zhang ve diğ., 2005). Öte yandan bu polimorfizm ile ilgili Mishra ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmediği için MMP-7 promotör bölgesi 181. pozisyonundaki A/G polimorfizmi ile koroner arter hastalığı arasında bir ilişki kurulamamıştır (Mishra ve diğ., 2012). MMP-7 promotör bölgesi 181. pozisyonundaki A/G polimorfizmi ve 153. pozisyondaki C/T polimorfizmi beraber incelenmesi ve hatta MMP-7'nin diğer polimorfizmleri göğüs ve endometrial kanser tiplerinin yanı sıra romatoid artrit gibi çeşitli hastalıklarda incelenmiştir ve bu çalışmaların sonucunda MMP-7 kanser çeşitleriyle ilişkili bulunduğu gibi romatoid artrit hastalığının fonksiyonel seviyesini belirlemede rol oynayabileceği de düşünülmüştür (Ye ve diğ., 2007; Fadiel ve diğ., 2009, Fadiel ve diğ. 2012). Ayrıca bu iki polimorfizmin yine koroner arter hastalığıyla olan ilişkisinin incelendiği başka bir çalışmada MMP-7'nin bu polimorfizmlerinin hiperkolestrolü olan hastalarda koroner arter hastalığı üzerine etkileri olduğu ifade edilmiştir (Jormsjö ve diğ., 2001).

Yapılan bu çalışmaların dışında mide kanserle ilgili olarak 2007 yılında Japonya'da Sugimoto ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada MMP-7 -181 G alleleline sahip olmanın kardial olmayan *H.pilori* bağlantılı mide kanserinin artan riskiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir ve bunun bir sonucu olarak MMP-7 -181 G yapılan için genotipleme testlerinin mide kanserinin yüksek riskini taşıyan bireyleri belirlemede kullanılabileceği düşünülmüştür (Sugimoto ve diğ., 2008).

2.AMAÇ

MMP' ler diğ er kanserleş me süreçlerinde olduğu gibi mide kanseri geliş iminde de ekstrasellüler matriste kontrolsüz protein degradesyonu yaparak kanserleşmeye katkıda bulunurlar. Bu özellikleriyle kanserle ilgili yapılan pek çok çalışmaya kaynak olmuşlardır. MMP'ler ve mide kanseri ilişkisiyle ilgili yapılan bir çalışmada oksidatif stres birikimi ve MMP genlerinin artan ifadesi arasında dikkat çekici bir ilişki olduğu ve MMP'lerin oksidatif strese sürekli maruz kalmasından dolayı mide kanserlerinde tedavinin potansiyel bir hedefi olabileceği gösterilmiştir (Gencer ve diğ., 2013).

Diğ er MMP'ler gibi MMP-7 (matrilisin) de tümör agresifliği ile ilişkilendirilmiştir (Hulboy ve diğ., 2004). Bu ilişki MMP-7' nin jelatinaz ailesinden MMP-2 ve MMP-9 'un prodomainine bağlanma yeteneğine sahip olmasına dayandırılmaktadır. Bu sayede MMP-7, MMP-2 ve MMP-9'un aktivasyonunu sağlar ve ECM'nin jelatin, fibronektin, laminin ve elastin gibi bileş enlerinin yıkımında rol alır (Wilson ve Matrisian, 1996). Böylece tümör ilerlemesine ve invazyonuna katkıda bulunur.

MMP-7 promotör bölgesi 181. pozisyonundaki A/G polimorfizmi endometrial kanser, kolorektal kanser mesane kanseri meme kanseri, akciğ er kanseri ve mide kanseri gibi birçok kanser çeş idiyle ilişkilendirilmiştir. Ancak mide kanseri ile ilişkisinin incelendiği çalış malar sınırlı sayıdadır. Bunlardan biri olan ve Malik ve arkadaş larınca yürütö len bir çalışmada bu polimorfizmin mide kanseri yüksek riski olan bireylerin tahmini için biyobelirteç olarak kullanılabilceği gösterilmiştir (Malik ve diğ., 2010). MMP-7 promotör bölgesi 181. pozisyonundaki A/G polimorfizminin mide kanseriyle ilişkisini inceleyen diğ er çalış malarda da bu polimorfizm ve mide kanseri arasında ilişki kurulmuştur (Sugimoto ve diğ., 2008, Achyut ve diğ., 2009, Zhang ve diğ., 2005). Yapılan çalış malarda kullanılan DNA örnekleri kan örneklerinden elde edilirken bu çalışmada kullanılan DNA örnekleri hasta grubundaki bireylerin mide tümörlü ve mide normal dokularından elde edilmiştir.

Bu alışmada Türk populasyonunda mide kanseri hastalarının mide tümörlü ve normal dokularında MMP-7 geni -181 A/G transisyon polimorfizminin PZR-RFLP yöntemi ile araştırılıp, tespit edilen genotiplerin kontrol grubuyla sigara ve alkol kullanımı gibi çevresel faktörler, ayrıca cinsiyet yaş ve aile hikayesi açısından ve hasta grubunun kendi içinde *H.pilori* enfeksiyonu, invazyon derinliği, tümör evresi, tümör nekrozu açısından allel ve genotip frekansları karşılaştırılarak incelenmesi hedeflenmiştir.

3.GEREÇLER

3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler

Bu çalışmadaki hasta grubuna ait tümör ve çevre doku örnekleri ve bu hastalara ait patolojik bilgiler ve sigara, alkol ve ailesel hikaye bilgileri, 2006-2009 yılları arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ve Patoloji Ana Bilim Dallarından temin edilmiştir. DNA örnekleri önceden izole edilip -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çalışmadaki kontrol grubu DNA örnekleri ise Gayrettepe Florence Nightingale Hastanesi ve Acıbadem Hastanesi Genetik Tanı Merkezinden temin edilmiştir. Bu örneklerin sigara, alkol ve ailesel hikaye bilgilerine de yine Gayrettepe Florence Nightingale Hastanesi Acıbadem Hastanesi Genetik Hastalıklar Tanı Merkezinden ulaşılmıştır. Ayrıca örnekler, herhangi bir kanser geçmişi olmama şartı dışında tamamen rastgele seçilmiştir.

Bu çalışmada 46'sı hasta grubunda ve 52'si sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda olmak üzere toplam 98 kişi ile çalışılmıştır. Örnekler 2405/296 numaralı İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu izni ile toplanmıştır.

3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tamponları ve DNA Polimeraz Enzimleri

10X MgCl ₂ 'süz Tampon	: 200 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ , 750 mM Tris-HCl (pH 8,8), % 0,1 Tween 20 (Fermentas, LİTVANYA)
MgCl ₂	: dH ₂ O'da 25 mM (Fermentas, LİTVANYA)
Deoksiribonükleotitler (dNTP)	: 100 mM dATP, dCTP, dGTP (Fermentas, LİTVANYA)

Taq DNA Polimeraz

: Rekombinant Taq DNA Polimeraz
(Fermentas, LİTVANYA)

3.3. Primerler

Bu çalışmada kullanılan primerler dizayn edilirken Jianhui Zhang ve arkadaşlarının çalışmasından referans alınmıştır (Jianhui Zhang ve diğ., 2005). Primer dizileri Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo.3.1. MMP-7 geni -181 A/G polimorfik bölgesini oluşturup çoğaltmak için kullanılan primerler

Pozisyon	Polimorfizm	Primer Dizisi (5'→3')
-181	rs11568818 (EcoR1)	ileri primer (22bp) 5'- TGGTACCATAATGTCCTGAATG-3' geri primer (30bp) 5'- TCGTTATTGGCAGGAAGCACACAATGAATT-3'

3.4. Restriksiyon Enzimi ve Reaksiyon Tamponu

EcoR1

: 10 U/μl (Fermentas, LİTVANYA)

Reaksiyon Tamponu

: 10X BSA'lı Tampon EcoR1

Tanıma Yeri

: 5' G~AATTC 3'
3' CTTAA~G 5'

3.5. Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar

10X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) (pH 8,3)

: 890 mM Tris-Baz,
890 mM Borik Asit,
20 mM Na₂EDTA.2H₂O

Agaroz Jel	: 0,5X TBE tamponunda %2'lik ve %3'lük agaroz (Prona, EEC)
Etidyum Bromür (EtBr)	: 10 mg/ml (Sigma, ALMANYA)
6X DNA yükleme boyası	: 10mM Tris-HCl(pH 7,6) 2,5 mg/ml BPB 2,5 mg/ml Ksilen siyanol 5 g/ml gliserol 60 mM EDTA (Fermentas, LİTVANYA)

3.6. DNA Büyüklük Markörleri

GeneRuler 100 kbç DNA Markörü: 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 baz çiftlik fragmanlar içeren DNA markörü (Fermentas, LİTVANYA).

3.7. Cihazlar ve Markaları

CİHAZLAR	MARKA
Görüntüleme Sistemleri	: Bio-RAD Universal Hood II
Isı Bloğu	: DB 2D
Manyetik Karıştırıcılar	: MR3001
Güç Kaynakları	: EPS301, PowerPac Basic
Thermo Cyclers	: Techne TC-512
Elektroforez Sistemleri	: MultiSub Midi (Cleaver Scientific)
Santrifüjler	: MiniSpin Plus (Eppendorf)
Otoklav	: Dik Tip Otoklav (BES)
Tartı	: Hassas Terazi, XB220 A (Presica)
Su Arıtma Sistemi	: Millipore Milli Q Synthesis A10
Buzdolapları	: Beko 8742, Arçelik 3061 Plus
Derin Dondurucular	: -20 ⁰ C, Arçelik 2021 D,
Mikropipet Seti	: 0,2-2, 2-20, 20-200, 200-1000µl'lik Finnpipette(ThermoScientific, FİNLANDİYA)

4. YÖNTEMLER

4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile çoğaltılacak bölgenin belirlenmesi

MMP-7 geni promotör bölgesindeki 181. pozisyonunda A/G polimorfizminin analizinde PZR ile çoğaltılacak hedef bölgenin belirlenmesi için kullanılan dizi (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=11568818) NCBI Fasta Sekans' dan elde edilmiştir. EcoR1 enzimi tanıma bölgesi oluşturmak için geri primerin 3' ucuna yakın 4. pozisyonundaki T yerine A yerleştirerek bir bazı hedef diziyeye yanlış eşleşme olacak şekilde tasarlanırken, ileri primer diziyeye spesifik olarak seçildi (Şekil 4.1.). Cromaspro programı kullanılarak PZR ile çoğaltılacak hedef bölge belirlendi.

```
5' TGGTACCATAATGTCCTGAATG ATACCTATGAGAGCAGTCATTTGACTTTGGCAAAAAA  
ATGAGGTTTCTCATGGAGTCAATTTATGCAGCAGACAGAAAAAAAATCCTTTGAAAGAC  
A/G AATT/A CATTGT GTGCTTCCTGCCAATAACGA 3'
```

Şekil 4.1 PZR ile çoğaltılan bölgenin belirlenmesi (Pembe ile gösterilmiş bölgeler primer bağlanma bölgelerini, mavi ile gösterilmiş bölge primerin değiştirilen bazını ve A/G şeklinde gösterilmiş bölge de restriksiyon enziminin tanıma bölgesini göstermektedir.)

4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR)

PZR; laboratuvar ortamında spesifik DNA dizilerinin primer denilen sentetik oligonükleotid diziler yardımıyla çoğaltılması işlemidir.

Tipik bir PZR'nin gerçekleşmesi için gerekli olan reaktifler vardır. Bunlar;

1- Kalıp olarak kullanılacak DNA

2-İki tane tek iplikli sentetik DNA oligonükleotidi (forward ve reverse primer), (PZR yapılmak istenen gen dizisini belirler),

3- Dört tip deoksiribonükleotid trifosfat (dNTPs),

4- Yüksek ısıda çalışabilecek bir DNA polimeraz (Taq DNA pol.)'dır

Bir PZR; denatürasyon, bağlanma, uzama aşamalarından oluşur ve bir döngüde primer uzaması ile sentezlenen ürün bir sonraki döngüde kalıp görevi görür bu sayede DNA kopyalarının sayısı teorik olarak her döngüde ikiye katlanır. Sonuç olarak 30 döngülük bir PZR hedef DNA dizisini milyonlarca kez katlayacak bir ürün verebilir. Bu reaktiflerin miktarları, döngü sayısı, süreleri ve sıcaklıkları her PZR için farklılık gösterir. Uygun koşulları sağlamak için de PZR optimizasyon çalışmaları yapılır.

Bu çalışmada optimize edilmiş PZR koşulları ve miktarları ayrıca elektroforez için gereken yükleme koşulları Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo.4.1.EcoR1 polimorfik bölgenin çoğaltılması için belirlenmiş PZR ve yükleme koşulları

PZR koşulları			
İlk denatürasyon	94°C, 5 dk		
Denatürasyon	94 °C, 30 sn		
Bağlanma	58 °C, 30 sn		
Uzama	72°C, 30 sn		
Son uzama	72°C, 5 dk		
Döngü sayısı : 35			
Reaktif miktarları			
Reaktifler	Stok konsantrasyonu	Kullanılan miktar	Çalışma Konsantrasyonu
MgCl ₂	25 mM	2,5 µl	2,5 mM
Taq polimeraz	5 U/ml	0,2 µl	1U
Forward primer	10 mM	0,25 µl	0,1 mM
Revers primer	10 mM	0,25 µl	0,1 mM
dNTP karışımı	10 mM	0,5 µl	0,2 mM
10X Tampon	10X	2,5 µl	1X
Son Hacim	-	25 µl	-
Yükleme koşulları			
Agoroz jel	%2		
PZR ürünü	5µl		
Yükleme boyası	1µl		
Markör	100bç		
V	120		
mA	300		
Dk	20		

4.3 Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

RFLP moleküler biyolojide polimorfizm çalışmalarında sıkça kullanılan bir yöntemdir, temelde restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA'nın farklı büyüklükteki fragmanlara ayrılmasıdır. Restriksiyon enzimleri, DNA üzerinde yaklaşık 5-10 baz uzunluğunda belirli bir nükleotid dizisini tanıyarak bu noktada kesim yapar ve DNA'yı böler. Her DNA molekülü farklı kesim noktalarına sahip bölgeleri içerir. Bu DNA bölgeleri aynı restriksiyon enzimi kullanılarak kesildiğinde bireylerin taşıdığı mutasyonlara bağlı olarak değişik uzunlukta parçalar elde edilebilmektedir.

RFLP yöntemi dört adımdan meydana gelmektedir;

1-DNA izolasyonu

2- PZR

3-PZR ürününün restriksiyon enzimleri kullanılarak kesimi

4-Elektroforez ile kesilen fragmanların ayırımı, görüntülenmesi.

Yöntemin 3. basamağı olan enzim kesme işlemi için gerekli olan üç ana madde vardır;

1-PZR ürünü

2- Elde edilen PZR ürünü belirli noktalardan kesen restriksiyon enzimi

3- Enzime ait 10X tampon

Bu maddelerin dışında reaksiyonun gerçekleşmesi için gerekli olan bir sıcaklık vardır. Bu reaksiyon sıcaklığı kullanılan restriksiyon enziminin optimum çalışma sıcaklığı olmalıdır. Çok yüksek sıcaklıklar enzimin bozulmasına ve deaktivasyonuna yol açabilir ya da çok düşük sıcaklıklar enzimin aktivitesini düşürebilir veya tamamen durdurabilir.

Farklı restriksiyon enzimleri için reaksiyonda gerekli olan maddelerin miktarları, reaksiyon sıcaklığı ve süresi farklılık gösterir.

Bu çalışmadaki PZR ile çoğaltılan hedef bölgeler, EcoR1 restriksiyon endonükleaz enzimi koşulları ve oluşması beklenen fragment uzunlukları Tablo 4.2.'de gösterilmiştir

Tablo.4.2. RFLP reaksiyon koşulları, miktarları ve sonuçta oluşması beklenen DNA parça uzunlukları

EcoR1 için reaksiyon miktar ve koşulları			
Restriksiyon Enzimi	Miktar (U)	Sıcaklık (°C)	Süre (saat)
EcoR1	10	37	16
MMP-7 RFLP reaksiyon miktarları ve koşulları			
8 µl PZR ürünü			
1 µl reaksiyon tamponu			
1 µl EcoR1 restriksiyon enzimi			
37 C° 'de 16 saat inkübasyon süresi			
PZR-RFLP sonucu MMP-7 için beklenen DNA parça uzunlukları			
PZR Ürünü Uzunluğu : 150 bç			
Kesim Noktası: 120 bç		Kısa Fragment : 30 bç	

4.4 Jel Elektroforezi

Jel elektroforezi; DNA fragmanlarının, uygun tampon içinde bir jele yüklenerek negatif elektrottan pozitif elektrota doğru yürütülmesiyle tespitinin ve ayırımının yapıldığı bir yöntemdir.

Bu yöntemde DNA bantlarının görünür hale gelmesi EtBr veya gümüş boyaması ile sağlanır. En çok kullanılan jel elektroforez yöntemleri agaroz jel ve poliakrilamid jel elektroforezidir.

Bu çalışmada agaroz jel elektroforezi kullanılmıştır. Bu yöntem DNA fragmanlarını moleküler ağırlıklarına göre ayırır. Değişik agaroz konsantrasyonları değişik ayırım kapasitesi sağlar.

Çalışmada kullanılan agaroz jel konsantrasyonları, hangi yöntemlerde kullanıldıkları ve yükleme koşulları Tablo4.3.'de gösterilmiştir.

Tablo.4.3.Agaroz jel konsantrasyonları, kullanıldıkları yöntemler ve yükleme koşulları

Kullanıldığı yöntem	Konsantrasyon	Hazırlanış	Yükleme koşulu	Yürütme şartı
PZR	%2	50ml 0,5X TBE tampon 1gr toz agaroz 1,5µl EtBr	-1µl yükleme boyası + 5µl PZR ürünü -1µl 100bç markör	-120V -300mA -20dk
Restriksiyon enzim kesimi	%3	50ml 0,5X TBE tampon 1,5 gr toz agaroz 1,8 µl EtBr	-1µl yükleme boyası + 5µl R.E kesim ürünü -1µl 100bç markör	-120V -300mA -30dk

4.5. Dizi Analizi

PZR-RFLP yöntemi ile saptanan genotipler arasından DNA dizi analizi ile konfirme edilmek üzere rastgele olarak AA ve AG homozigot ve AG heterozigot örnekler seçildi. Dizi analizi yapılacak DNA örneklerinin amplifikasyonu son hacim 50 µl olacak şekilde tüm hacimler iki katına çıkarılarak aynı PZR koşullarında yapıldı. Ayrıca primerler 5mM konsantrasyonla 10 µl olacak şekilde hazırlandı. Amplifiye edilen PZR örneklerinin kalitesi agaroz jel elektroforezi ile saptandıktan sonra primerlerle birlikte pürifikasyon ve çift yönlü primer dizi analizi işleminin gerçekleştirilmesi için MacroGen firmasına gönderildi.

4.6. MMP-7 Promotör A/G Polimorfik Bölgesinin Moleküler Analizi

Bu çalışmada mide kanseri hastalığı ile MMP-7 geni promotör bölgesi -181 A/G polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması için ve bu polimorfizmin, normal doku ve mide tümör dokusunda, *H.pilori* enfeksiyonu, invazyon derinliği, tümör evresi ve tümör nekrozu açısından ikili karşılaştırmalarla değerlendirebilmesi için PZR-RFLP metodu kullanılmıştır. İlgili gen bölgeleri, uygun primer ve enzimler kullanarak PZR yöntemi ile çoğaltılmış ve polimorfik DNA dizileri, restriksiyon enzimi kesimi ve agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir. PZR ürünleri ve kesim sonrası oluşan fragmanların boyları Tablo 4.4.'de gösterilmiştir. Hasta ve kontrol grubunda saptanan polimorfizmlerin verileri istatistiksel olarak incelenmiştir.

Tablo 4.4.MMP-7 promotör polimorfizm bölgesi, kesimi ve beklenen parça uzunlukları

Polimorfik Bölge	SNP numarası	Enzim Kesimi	Genotip	Beklenen Fragment Uzunluğu
-181 A/G	rs11568818	EcoR1	AG	30 -120- 150 bç
-181 A/G	rs11568818	EcoR1	GG	120-30 bç
-181 A/G	rs11568818	EcoR1	AA	150 bç

4.7. İstatistiksel Veri Analizi

İstatistiksel analizler için SPSS 19.0 paket programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Frekans, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) yanı sıra Kolmogorov - Smirnov dağılım testi kullanılmıştır ve niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi ve Fisher Exact test kullanıldı. Ayrıca çapraz tabloları oluşturan değişkenler arasındaki ilişkilere ise Cramers' V tekniği ile bakılırken risk faktörlerini çok değişkenli incelemek için Lojistik regresyon analizi kullanılmıştır.

5. SONUÇLAR

5.1. Örneklerin Tanımı

Bu çalışmada, hasta grubunda 46 hasta tümör dokusu ve bu hastaların mide çevre dokuları ile birlikte 46 çift, kontrol grubunda ise 52 sağlıklı bireye ait DNA örnekleri olmak üzere toplamda 98 örnek kullanılmıştır.

Hasta grubu 31 erkek (% 67,4) ve 15 kadın (% 32,6) bireyden oluşmaktadır. Hasta grubuna ait *H.pilori* enfeksiyonu, invazyon derinliği, tümör evresi, tümör nekrozu, sigara ve alkol kullanımı, ailesel hikaye bulgularına göre yüzdelik oranları ve yaş ortalaması \pm standart sapma olarak Tablo 5.1.'de gösterilmiştir

Tablo.5.1. Mide kanser hastalarının belirli karakteristik özelliklerine göre yüzde oranları

	n(Hasta Sayısı)	Ortalama	Standart sapma	
Yaş	46	58 (33-84)	± 12.6	
Cinsiyet				
Kadın	15	57	± 14.8	
Erkek	31	58	± 11.6	
Mide kanser	n	%	Bilgisi olan hasta sayısı	Bilgisi olmayan hasta sayısı
	(Hasta Sayısı)	(Yüzde)		
Toplam hasta	46			
<i>H. pilori</i>	14	37	38	8
Tümör Evresi			30	16
1	5	17		
2	10	33		
3	15	50		
İnvazyon derinliği			45	1
L.propria/M.mukoza/ Submukoza	6	14		
M.propria	10	22		
Subseroza	1	2		
Seroza	28	62		
Tümör nekrozu	24	52	46	0
Sigara	23	58	40	6
Alkol	7	18	40	6
Aile hikayesi	11	28	40	6

Kontrol grubu 18 erkek (% 34,6) ve 34 kadın (% 65,4) bireyden oluşmaktadır. Ayrıca kontrol grubu bireylerinin ailesel hikaye, alkol ve sigara kullanımını özelliklerine göre yüzdelik oranları hesaplanmıştır ve kontrol grubuna ait yaş ortalaması (\pm standart sapma olarak) bilgileriyle birlikte Tablo 5.2.'de gösterilmiştir

Tablo 5.2.Kontrol grubu için yaş ortalaması ve standart sapma değerleri ve belli özelliklerinin yüzdesi

	n(örnek Sayısı)	Ortalama	Standart sapma	
Yaş	52	56 (50-75)	$\pm 5,45$	
Cinsiyet				
Kadın	34	56	$\pm 5,96$	
Erkek	18	56	$\pm 4,48$	
Kontrol grubu	N (örnek Sayısı)	% (Yüzde)	Bilgisi olan örnek sayısı	Bilgisi olmayan örnek sayısı
Sigara	10	32	34	18
Alkol	0	0	52	0
Aile hikayesi	0	0	52	0

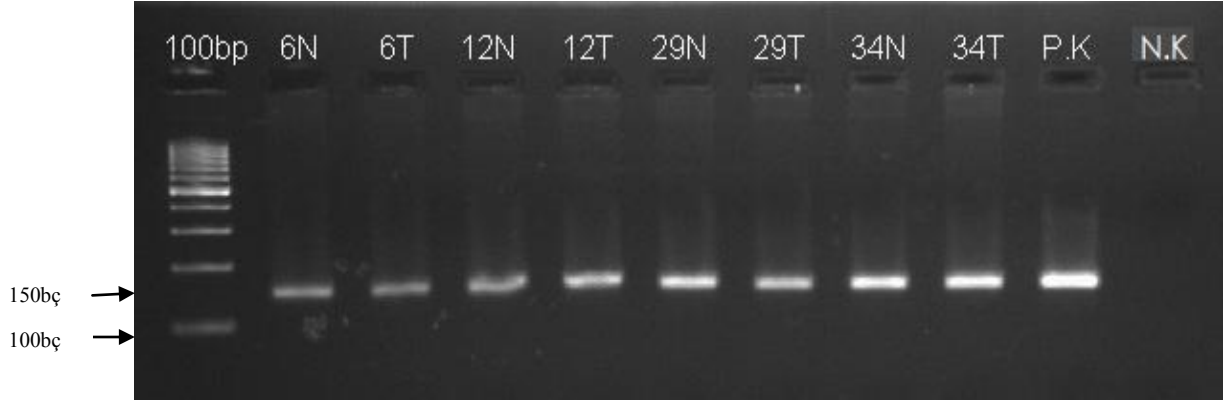
5.2. MMP-7 Geni Promotör Bölgesi -181. A/G Polimorfizminin PZR-RFLP Yöntemi ile Moleküler Analizi

5.2.1. İlgili Gen Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması

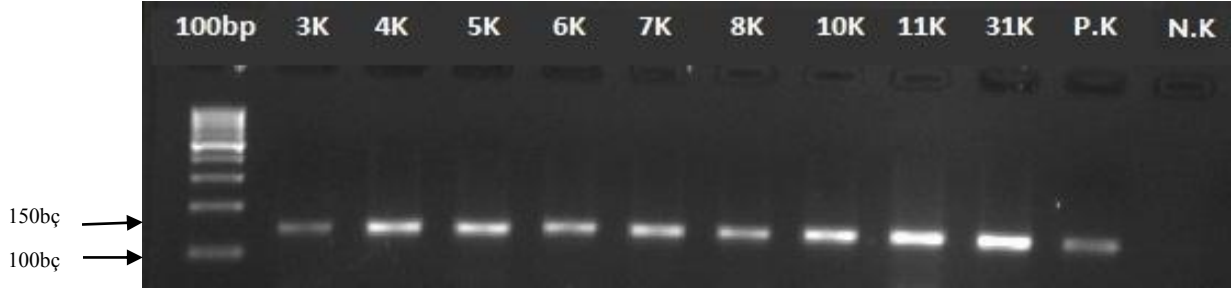
MMP-7 geni -181 A/G tek nükleotid polimorfizmi tespiti için reverse primerin 3' ucunda 4. Timinin Adenine çevrilmesiyle geri primer, hedef diziye spesifik olarak da ileri primer tasarlanmıştır.

Geri primerdeki Adenin Timin modifiyesiyle, -181 G alleli varlığında EcoR1 enzimi için tanıma bölgesi oluşturulmuştur.

Polimorfik bölge tasarlanan bu primerlerle sınırlandırılarak çoğaltılmıştır ve 150 bp'lik PZR ürünü elde edilmiştir (Şekil 5.1. ve Şekil 5.2.).



Şekil.5.1.Hasta grubu için: MMP-7 181 A/G polimorfik promotör bölgesinin PZR ile amplifikasyon sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görünümü (T: Tümör doku, N: Normal doku, P.K : pozitif kontrol , N.K: negaif kontrol)



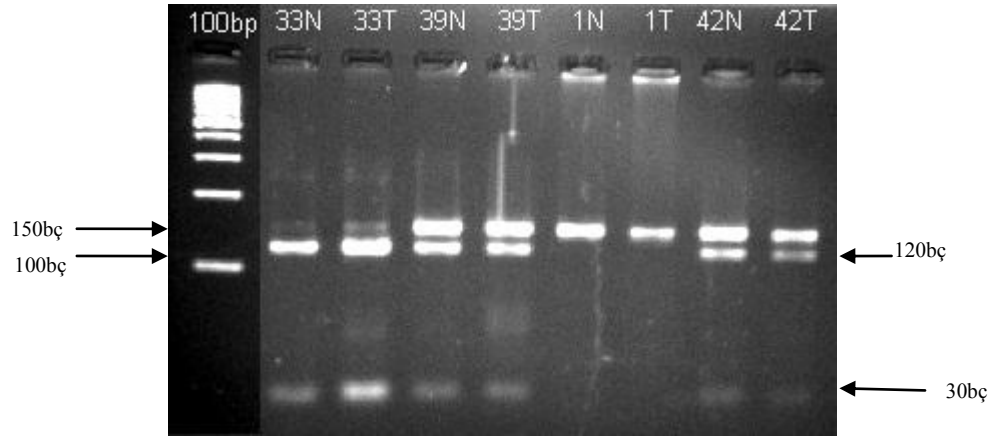
Şekil.5.2.Kontrol grubu için: MMP-7 181 A/G polimorfik promotör bölgesinin PZR ile amplifikasyon sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görünümü (K: kontrol grubu, P.K : pozitif kontrol, N.K: negaif kontrol)

5.2.2. PZR Ürünlerinin Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi

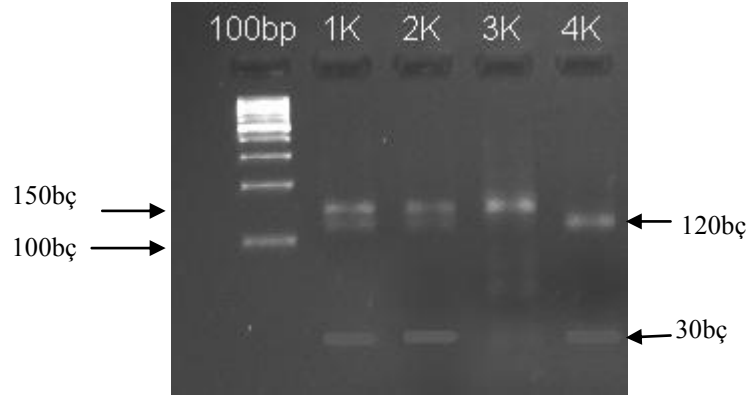
Bu çalışmada restriksiyon enzim kesimi için EcoR1 enzimi kullanılmıştır. EcoR1 kesimi PZR ürününü G alleli varlığında 120bç ve 30 bç'lik iki parçaya ayırmaktadır. A alleli varlığında enzim kesim bölgesini tanımaz ve parça oluşmaz.

Enzim kesimi için PZR ürünleri EcoR1 enzimi ile 37C°'de 16 saat inkübasyonda bırakıldıktan sonra %3'lük agaroz jelde görüntülenmiştir (şekil 5.3. ve şekil 5.4.). Dört hasta dışında aynı hastalara ait normal ve tümörlü dokuda aynı genotipler saptandı (şekil 5.5.).

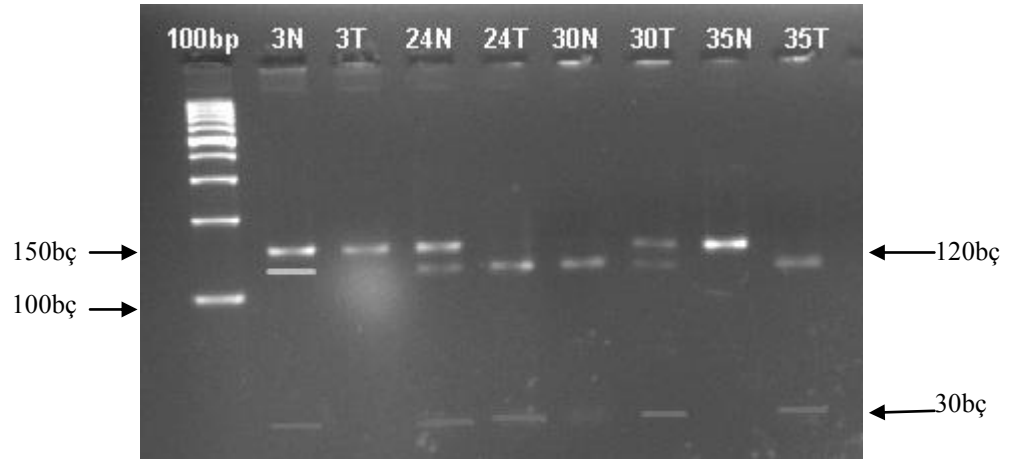
Hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda AA, AG, GG genotiplerinin üçüne de rastlandı.



Şekil.5.3.Hasta grubuna ait polimorfik promotör bölgesi amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının %3'lük agaroz jelde görünümü (1N-T AA homozigot, 39N-T ve 42N-T AG heterozigot, 33N-T GG homozigot)



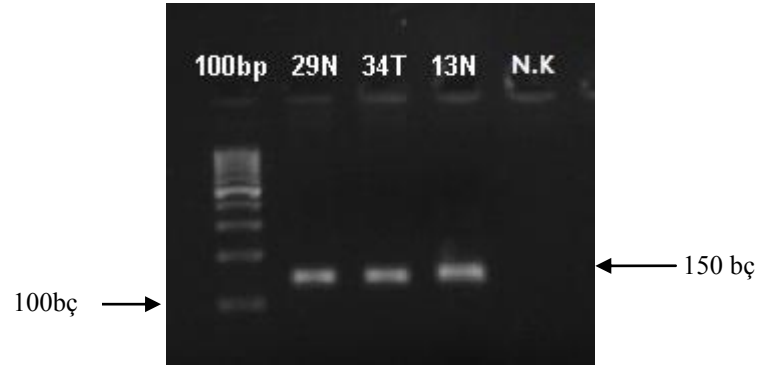
Şekil.5.4.Kontrol grubuna ait polimorfik promotör bölgesi amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının %3'lük agaroz jelde görünümü (1K , 2K AG heterozigot, 3K AA homozigot, 4K GG homozigot)



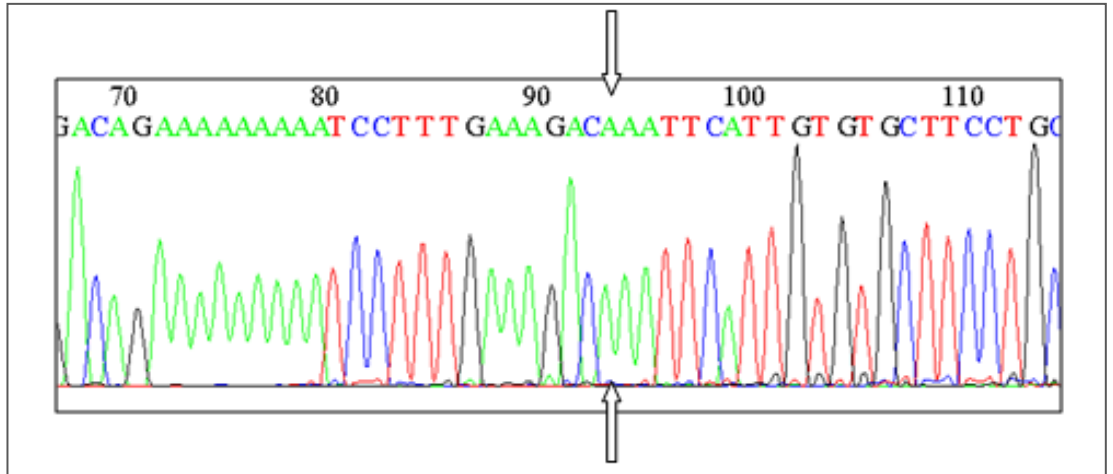
Şekil.5.5.Hasta grubun ait normal ve tümör doku genotipleri birbirinden farklı olan örnekler. 3N : AG – 3T: AA, 24N: AG- 24T: GG, 30N: GG- 30T: AG, 35N: AA- 35T: GG

5.2.3.Dizi Analizi

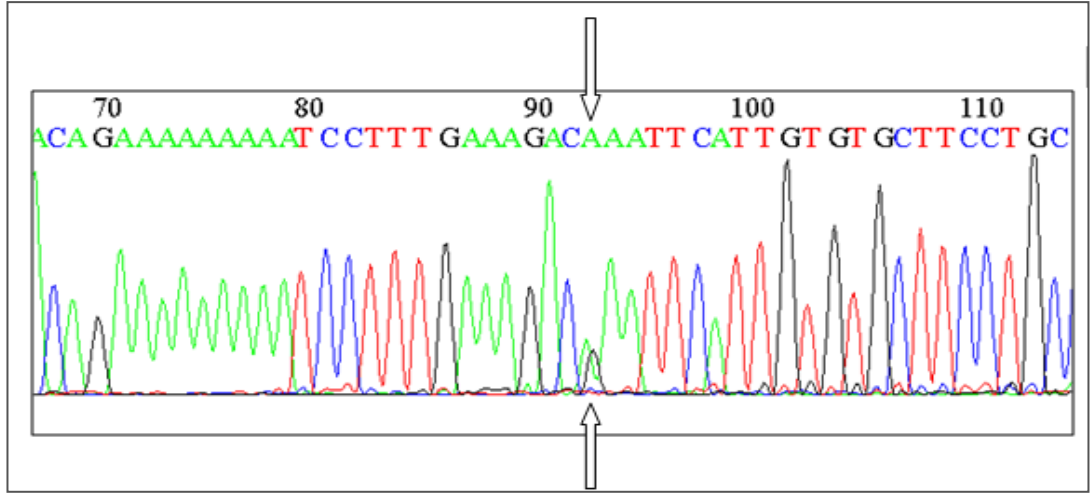
DNA pürifikasyonu ve dizi analizi için rastgele seçilip gönderilen örneklerin PZR görüntüleri Şekil 5.6.'da, dizi analizi sonuçları gösterimi de Şekil 5.7., 5.8. ve 5.9.'da ki kromotogram sonuçlarında gösterilmiştir. Beklenildiği gibi MMP-7 promotör bölgesi -181. pozisyonda A/G polimorfizmi gösteren dizide hem adenin hem de guanin, A/A polimorfizmi gösteren dizide sadece adenin gözlenirken, G/G polimorfizmi gösteren dizide ise sadece guanin görülmüştür



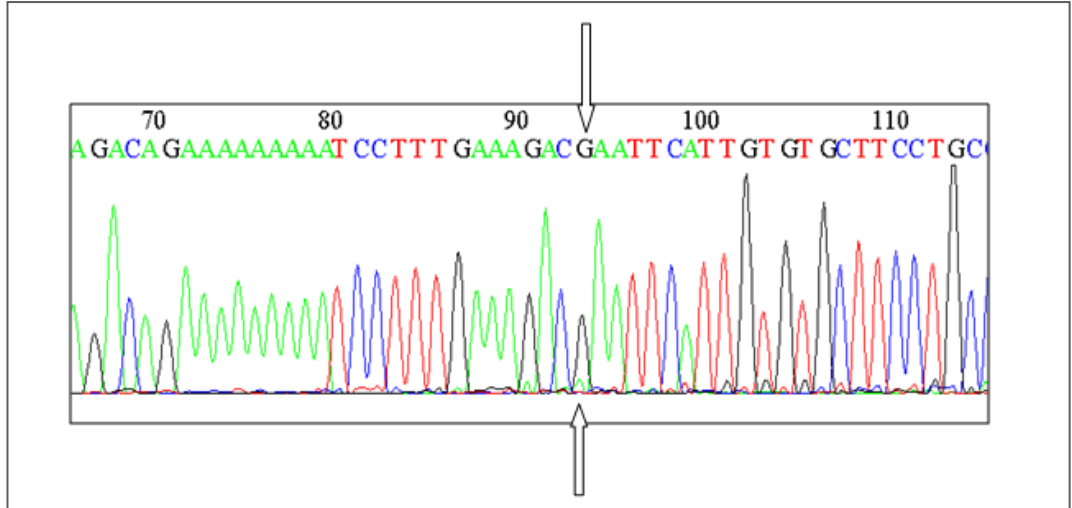
Şekil 5.6.Dizi analizine gönderilecek PZR örneklerinin %2'lik agaroz jelde görüntüsü (T: Tümör doku, N: Normal doku, N.K: negaif kontrol)



Şekil.5.7. MMP-7 -181 promotör bölgesi AA homozigot kromotogram görünümü (34T örneği için)



Şekil.5.8. MMP-7 -181 promotör bölgesi AG heterozigot kromotogram görünümü (29N örneği için)



Şekil.5.9. MMP-7 -181 promotör bölgesi GG heterozigot kromotogram görünümü (13N örneği için)

5.3. Verilerin İstatistiksel Analizi

PZR-RFLP yöntemiyle hasta ve kontrol gruplarının genotip dağılımları analiz edilerek genotip ve allel frekansları karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte hastalık oluşumu ile cinsiyet, yaş, sigara ve alkol kullanımı, ailesel hikaye ve MMP-7 -181 A/G polimorfizmi ilişkisi incelenmiştir.

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS 19.0 paket programı ve tanımlayıcı istatistiksel metotlar (Frekans, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) kullanılmıştır. Ayrıca örnek sayısının az olduğu durumlarda Kolmogorov - Smirnov dağılım testi kullanılmıştır.

Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-Kare testi ve Fisher Exact test kullanılmıştır. Çapraz tabloları oluşturan değişkenler arasındaki ilişkilere Cramers' V tekniği ile bakılmıştır. Cramers' V tekniği kategori sayısı ikiden fazla olan nominal değişkenler arasındaki ilişkinin düzeyini gösterir. Cramers' V istatistiğinin değeri 0.00 ise iki değişken arasında hiçbir ilişki yoktur, 1.00 ise iki değişken arasında ilişki olduğu söylenebilir. Genel olarak 0.33'ün altındaki ilişkiler zayıf, 0.34-0.60 civarındaki ilişkiler orta, 0.61 ve daha yüksek ilişkilerin ise güçlü olduğu varsayılır. Ayrıca risk faktörlerini çok değişkenli incelemek için Lojistik regresyon analizi kullanılmıştır.

Sonuçlar % 95 güven aralığında, $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde ve $p < 0,01$ $p < 0,001$ ileri anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

5.3.1. Hardy-Weinberg Analizi ve Genotip - Allel Frekansları

Hasta grubundaki normal mide dokusuna, tümörlü dokuya ve kontrol grubuna ait gözlenen genotip frekanslarından yararlanılarak beklenen allotip frekansları hesaplanmıştır.

Gözlenen değerler ki-kare testi yapılarak karşılaştırılmıştır ve kullanılan örneklerin Hardy-Weinberg dengesine uyumlulukları incelenmiştir. Hardy-Weinberg analiz sonuçları Tablo 5.3' de gösterilirken frekans hesaplamaların sonucunda elde edilen frekanslar Tablo 5.4, 5.5 ve 5.6' da gösterilmiştir.

Tablo 5.3. Hardy-Weinberg analizi

	HASTA GRUBU		KONTROL GRUBU
	NORMAL DOKU	TÜMÖR DOKUSU	
Ki-kare	1,47	0,81	2,77
P değeri	0,23	0,37	0,09

Kontrol grubu Hardy-Weinberg dengesiyle uyumlu bulundu.

(denge için: $p \text{ değeri} \geq 0.05$, $\text{ki-kare} \leq 3.84$ olmalı)

Tablo 5.4. Hasta grubunda Tümör dokularına ait MMP-7 181. promotör bölgesi genotip ve allel frekansları

Genotip	Genotip sayısı	Genotip frekansı	Allelotip	Allelotip sayısı	Allel frekansı
AA	11	0,24	A	48	0,52
AG	26	0,57	G	44	0,48
GG	9	0,19			
TOTAL	46	1	TOTAL	92	1

Tablo5.5. Hasta grubunda Normal dokulara ait MMP-7 181. promotör bölgesi genotip ve allel frekansları

Genotip	Genotip sayısı	Genotip frekansı	Allelotip	Allelotip sayısı	Allel frekansı
AA	11	0,24	A	49	0,53
AG	27	0,59	G	43	0,47
GG	8	0,17			
TOTAL	46	1	TOTAL	92	1

Tablo 5.6. Kontrol grubuna ait MMP-7 181. promotör bölgesi genotip ve allel frekansları

Genotip	Genotip sayısı	Genotip frekansı	Allelotip	Allelotip sayısı	Allel frekansı
AA	10	0,19	A	52	0,5
AG	32	0,62	G	52	0,5
GG	10	0,19			
TOTAL	52	1	TOTAL	104	1

5.3.2. MMP-7 geni -181 A/G polimorfizmi ile Mide Kanseri İlişkisinin Araştırılması

MMP-7 geni -181 A/G polimorfizmi ile mide kanseri ilişkisinin araştırılması için çapraz tablolar oluşturulmuş ve ki-kare bağımsızlık testi uygulanmıştır.

5.3.2.1. Çapraz Tablolar ve Ki-Kare Bağımsızlık Testi

Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikler açısından karşılaştırılması tablo 5.7' de gösterilmiştir. Ayrıca hasta grubu normal doku ve tümörlü doku genotipleri dağılımı ve oluşturulan çapraz tablo ve ki-kare bağımsızlık testi sonuçları tablo 5.8 ve 5.9'da gösterilirken hasta ve kontrol grupları ile oluşturulan çapraz tablolar ve ki-kare bağımsızlık testleri sonuçları Tablo 5.10' da gösterilmiştir.

Tablo 5.7. Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikler açısından karşılaştırılması

		Hasta		Kontrol		P
		n	%	n	%	
Cinsiyet	Kadın	15	32,6%	34	65,4%	0,001**
	Erkek	31	67,4%	18	34,6%	
Sigara	Yok	17	42,5%	24	70,6%	0,014*
	Var	23	57,5%	10	29,4%	
Alkol	Yok	33	82,5%	52	100,0%	0,002**
	Var	7	17,5%	0	0,0%	
Aile Hikayesi	Yok	29	72,5%	52	100,0%	0,000***
	Var	11	27,5%	0	0,0%	
Yaş		58,043	12,623	55,923	5,455	0,295

*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001

Hasta grubundaki olgularda erkek olguların oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. (p=0,001<0,05). Hasta grubundaki olgularda sigara kullanım oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. (p=0,014<0,05). Hasta grubundaki olgularda alkol kullanım oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. (p=0,002<0,05). Hasta grubundaki olgularda aile hikayesi oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. (p=0,002<0,05).

Tablo 5.8. Hasta grubuna ait Normal doku genotipi ve Tümörlü doku genotipi yüzdelik dağılımı

	Hasta grubu Normal doku		Hasta grubu Tümörlü doku	
	n	%	N	%
AA	11	23,9%	11	23,9%
AG	27	58,7%	26	56,5%
GG	8	17,4%	9	19,6%

Tablo 5.9. Hasta Grubunun Normal Doku genotipi ile Tümörlü Doku genotipi Çapraz tablosu ve Ki-kare bağımsızlık testi

		Normal Doku						P
		AA		AG		GG		
		n	%	n	%	n	%	
Tümörlü Doku	AA	10	%90,9	1	%3,7	0	%0,0	Cramer's V = 0,843 p= 0,000***
	AG	0	%0,0	25	%92,6	1	%12,5	
	GG	1	%9,1	1	%3,7	7	%87,5	

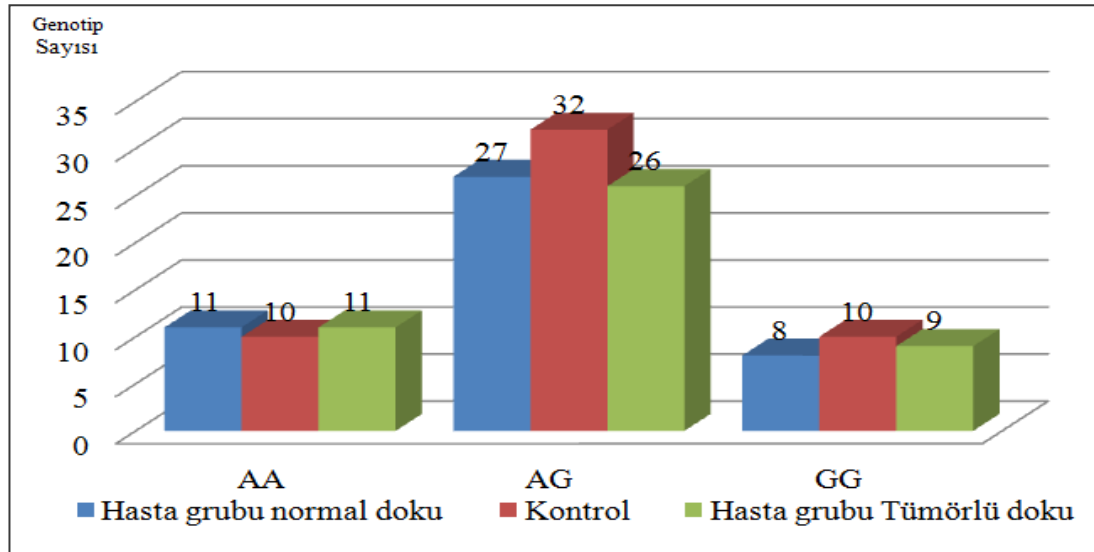
*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001

Tümörlü Doku Genotipi ile normal doku genotipi arasında anlamlı uyum bulunmuştur (Cramer's V = 0,843; p=0,000<0.05). Bu uyum dolayısıyla hasta ve kontrol grupları çapraz tabloları oluşturulurken ve ki-kare bağımsızlık testleri uygulanırken hasta gruplarının genotipleri için normal doku genotipleri kullanılmıştır.

Tablo 5.10. Hasta Grubunun Normal Doku genotipi ile Kontrol grubu genotipi Çapraz tablosu ve Ki-kare bağımsızlık testi

	Hasta grubu normal doku		Kontrol		P
	n	%	n	%	
AA	11	23,9%	10	19,2%	0,573
AG	27	58,7%	32	61,5%	0,774
GG	8	17,4%	10	19,2%	0,814

Hasta Grubunun Normal Doku genotipi ile Kontrol Grubunun genotipi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. (p>0,05).



Şekil 5.10. Hasta Grubunun Normal Dokusu genotipi, Tümörlü Doku genotipi ile Kontrol Grubunun genotipi dağılım

5.3.3. Lojistik Regresyon Analizi

Ki-kare testleri sonucunda hasta grubu dağılımlarını mide kanserini etkileyen diğer faktörler ile birlikte değerlendirmek ve göreceli oranları elde etmek için lojistik regresyon analizi yapılmıştır.

Bu göreceli orantı değerleri, hastalık ile ilişkili olduğu bilinen ve ki-kare testlerinde de anlamlı farklar görülen çevresel faktörlere (sigara içimi ve cinsiyet) göre düzeltilmiştir. Yaş faktörü ise kontrol ve hasta gruplarının yaş ortalamalarının hastalığın görülme sıklığının yoğun olduğu aralıkta olması (40-60) dolayısıyla değerlendirilmeye alınmıştır (Tablo 5.11.).

Tablo 5.11. Lojistik Regresyon Analizi

	B	P	OR	95% C.I.for OR	
				Lower	Upper
Yaş	-0,015	0,137	0,99	0,97	1,00
Cinsiyet	1,003	0,092	2,73	0,85	8,77
Sigara	0,883	0,107	2,42	0,83	7,08
genotip AA#		0,391	1,00		
genotip AG#	-1,013	0,206	0,36	0,08	1,74
genotip GG#	-0,143	0,804	0,87	0,28	2,69

hasta grubunda normal doku genotipi alındı.

Yaş, Cinsiyet, Sigara ve genotip etkisi istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0,05$).

5.3.4. AA, AG ve GG Genotiplerinin Kategorik Değişkenler Açısından Karşılaştırılması

AA, AG ve GG genotiplerinin cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı, ailesel hikaye, tümör nekrozu, HG, invazyon derinliği, *H.pilori* kategorik değişkenleri açısından karşılaştırılması Pearson kare ve Fischer Exact olasılık testleri ile yapılmıştır (Tablo 5.12 ve Tablo 5.13).

Tablo 5.12. Hasta grubunda normal doku genotiplerinin kategorik değişkenler açısından karşılaştırılması

		AA		AG		GG		<i>p</i>
		n	%	n	%	n	%	
Cinsiyet	Kadın	7	% 63,6	5	% 18,5	3	% 37,5	0,025*
	Erkek	4	% 36,4	22	% 81,5	5	% 62,5	
Sigara	yok	7	% 70,0	7	% 29,2	3	% 50,0	0,083
	var	3	% 30,0	17	% 70,8	3	% 50,0	
Alkol	yok	9	% 90,0	19	% 79,2	5	% 83,3	0,749
	var	1	% 10,0	5	% 20,8	1	% 16,7	
Aile Hikayesi	yok	7	% 70,0	17	% 70,8	5	% 83,3	0,811
	var	3	% 30,0	7	% 29,2	1	% 16,7	
Tümör Nekrozu	yok	5	% 45,5	12	% 44,4	5	% 62,5	0,657
	var	6	% 54,5	15	% 55,6	3	% 37,5	
HG	I	1	% 14,3	3	% 18,8	1	% 14,3	0,974
	II	3	% 42,9	5	% 31,3	2	% 28,6	
	III	3	% 42,9	8	% 50,0	4	% 57,1	
İnvazyon derinliği	I	2	% 18,2	4	% 15,4	0	% 0,0	0,852
	II	3	% 27,3	5	% 19,2	2	% 25,0	
	III	0	% 0,0	1	% 3,8	0	% 0,0	
	IV	6	% 54,5	16	% 61,5	6	% 75,0	
H.pylori	yok	5	% 55,6	13	% 61,9	6	% 75,0	0,698
	var	4	% 44,4	8	% 38,1	2	% 25,0	

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$

Cinsiyet ile hasta grubuna ait normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki gözlenirken ($p=0,025 < 0,05$) diğer hiçbir kategorik değişken açısından ilişki kurulamamıştır.

Tablo 5.13. Hasta grubunda tümörlü doku genotiplerinin kategorik değişkenler açısından karşılaştırılması

		AA		AG		GG		P
		n	%	n	%	n	%	
Cinsiyet	Kadın	7	%63,6	5	%19,2	3	%33,3	0,031*
	Erkek	4	%36,4	21	%80,8	6	%66,7	
Sigara	Yok	7	%70,0	8	%34,8	2	%28,6	0,122
	Var	3	%30,0	15	%65,2	5	%71,4	
Alkol	Yok	8	%80,0	19	%82,6	6	%85,7	0,954
	Var	2	%20,0	4	%17,4	1	%14,3	
Aile Hikayesi	Yok	6	%60,0	17	%73,9	6	%85,7	0,492
	Var	4	%40,0	6	%26,1	1	%14,3	
Tümör Nekrozu	Yok	6	%54,5	12	%46,2	4	%44,4	0,874
	Var	5	%45,5	14	%53,8	5	%55,6	
Hg	I	1	%14,3	3	%18,8	1	%14,3	0,742
	II	3	%42,9	6	%37,5	1	%14,3	
	III	3	%42,9	7	%43,8	5	%71,4	
İnvazyon Derinliği	I	2	%18,2	4	%16,0	0	%0,0	0,594
	II	4	%36,4	4	%16,0	2	%22,2	
	III	0	%0,0	1	%4,0	0	%0,0	
	IV	5	%45,5	16	%64,0	7	%77,8	
H.pylori	Yok	6	%66,7	13	%61,9	5	%62,5	0,969
	Var	3	%33,3	8	%38,1	3	%37,5	

*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001

Cinsiyet ile hasta grubuna ait tümörlü doku genotipi arasında anlamlı ilişki gözlenirken ($p=0,031 < 0,05$) diğer hiçbir kategorik değişken açısından ilişki kurulamamıştır.

5.3.5. Sigara ile Hastalık İlişkisinin Araştırılması

Sigaranın hastalık oluşumu üzerine etkisinin net olarak anlaşılabilmesi açısından hasta ve kontrol gruplarında sigara içenlerin ve içmeyenlerin genotipi çapraz tablosu oluşturuldu ve ki-kare bağımsızlık testi uygulandı (Tablo 5.14 ve Tablo 5.15)

Tablo 5.14. Hasta grubu normal doku ve kontrol grubu sigara kullanmayan bireylerinin genotipleri çapraz tablosu ve ki-kare bağımsızlık testi

		Hasta		Kontrol		P
		n	%	n	%	
Genotip	AA	7	%41,2	5	%20,8	$X^2=1,996$ $p=0,369$
	AG	7	%41,2	13	%54,2	
	GG	3	%17,6	6	%25,0	

Sigara kullanmayan bireyler arasında hasta ve kontrol grubu genotipleri karşılaştırıldığında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($X^2=1,996$; $p=0,369>0.05$).

Tablo 5.15. Hasta grubu normal doku ve kontrol grubu sigara kullanan bireylerinin genotipleri çapraz tablosu ve ki-kare bağımsızlık testi

		Hasta		Kontrol		p
		n	%	n	%	
Genotip	AA	3	% 13,0	2	% 20,0	$X^2=0,291$ $p=0,865$
	AG	17	% 73,9	7	% 70,0	
	GG	3	% 13,0	1	% 10,0	

Sigara kullanan bireyler arasında hasta ve kontrol grubu genotipleri karşılaştırıldığında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($X^2=0,291$; $p=0,865>0.05$).

6.TARTIŞMA

İnsanı insan yapan DNA özellikleri arasındaki benzerlik, bireyler arasında %99,9'tur. Dolayısıyla bireyleri farklı yapan DNA'nın sadece %0,1'lik küçük bir kısmıdır (Lander ve diğ., 2001). İşte bu %0,1' lik farklılık polimorfizm olarak adlandırılır. Polimorfizm, DNA'daki mutasyon olmayan değişiklikler olarak tanımlanabilir. En sık görülen çeşidi ise SNP' dir (Risch, 2000).

İnsan genomundaki bu polimorfizmler, meydana gelmesinde genetik ve çevresel faktörlerin birlikte etkili olduğu kanser hastalığı için yapılan araştırmalara kaynak olmuştur.

Mide genellikle *H.pilori* enfeksiyonu yüzünden oksidatif strese sıkça maruz kalan bir organdır ve bu yüzden kansere yatkınlığı yüksektir. Yapılan bir çalışmada MMP-7 geninin oksidatif stres altında hücrelerde apoptozdan kaçarak kanserleşmeye katkıda bulunabileceğine, MMP-7 geni ifadesinin insan mide karsinomu MKN-45 hücrelerinde hidrojen peroksitten etkilendiğini göstererek dikkat çekilmiştir (Gencer ve Irmak-Yazıcıoğlu, 2011). Ayrıca MMP-7, ECM'nin jelatin, fibronektin, laminin ve elastin gibi bileşenlerinin yıkımında rol alarak tümör ilerlemesine ve invazyonuna katkıda bulunur (Wilson ve Matrisian 1996). MMP-7 geninde birçok polimorfizm tanımlanmıştır ve bu polimorfizmlerin çeşitli kanser tipleriyle ve başka hastalıklara ilişkisi çalışmalara konu olmuştur (Fadiel ve diğ., 2009, Srivastava ve diğ., 2010, Yi ve diğ., 2010, Mishra ve diğ., 2012, Ye ve diğ., 2007, Jormsjö ve diğ., 2001). MMP-7 promotör bölgesi 181. pozisyonundaki A/G polimorfizmi MMP-7 geni polimorfizmleri arasında dikkat çekici bir öneme sahiptir ve yapılan çalışmaların sonucunda kanser ile ilişkisi vurgulanmıştır. Mide kanser dünyada en yaygın ikinci kanser türüdür ve kanserden dolayı ölümler arasında önemli bir yer tutmaktadır (Bozzetti ve diğ., 1999, Kim ve diğ., 1998).

MMP-7 geni promotör bölgesinde 181. pozisyondaki A/G polimorfizmi ve mide kanseri ilişkisini inceleyen sınırlı sayıda çalışma vardır ve bu çalışmaların sonucunda MMP-7 geni -181 A/G polimorfizminin mide kanserle ilişkili olduğu gösterilmiş ayrıca mide kanseri yüksek riskli bireyleri belirlemede kullanılabileceği önerisinde bulunulmuştur (Malik ve diğ., 2010, Sugimoto ve diğ., 2008, Achyut ve diğ., 2009, Zhang ve diğ., 2005).

Bu çalışmada Türk popülasyonuna ait 46 mide kanserli hastadan elde edilen mide tümör dokusu ve mide çevre dokuları DNA örnekleri ve 52 sağlıklı bireyden elde edilen DNA örnekleri PZR-RFLP çalışmaları ile incelenip alel frekansları elde edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının test sonucu elde edilen p değerleri Tablo 5.3.'de gösterilmektedir. P değerinin 0,05'ten büyük olması varsayılan dağılıma yani Hardy-Weinberg'e uygunluğu belirtmektedir. Bu bilgiler çerçevesinde hem kontrol grubu hem de hasta grubu polimorfizm için Hardy-Weinberg dengesindedir. Hasta grubunun dengede olması bu polimorfizm ile hastalık arasında ilişki olmama ihtimalini düşündürmektedir. Ancak daha önce de bahsedildiği gibi bu polimorfizm ve mide kanseri ile ilgili yapılan çalışmalarda polimorfizm ile hastalık arasında ilişki olduğunun gösterilmiş olması bu durumun Türk popülasyonuna özgü olma ihtimalini düşündürmektedir.

Bu çalışmada genetik faktörler ile birlikte çevresel faktörler de değerlendirilmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında yapılan karşılaştırmalar sonucunda cinsiyet (p= 0,001), sigara kullanma (p=0,014), alkol kullanma (p= 0,002), aile hikayesine sahip olma (p=0,000) hastalık ile ilişkili gibi görünüyorsa da bu sonucun hasta ve kontrol grubu arasında bu özellikler bakımından farklılıkların olması örneğin kontrol grubunda hiç alkol kullanan birey olmaması veya erkek bireylerin hasta grubunda kontrole göre fazla sayıda olması gibi nedenlerden yanıtıcı olabileceği düşünülmektedir. Ancak cinsiyet faktörü göz önüne alındığında mide kanseri insidansı yüksek veya düşük olan tüm ülkelerdeki erkeklerde mide kanserine kadınlara göre 2,5 kat daha fazla rastlanıldığını gösteren makaleler olması (Landis ve diğ., 1999) bu çalışmadaki hasta grubundaki erkek birey sayısının kadınların iki katı olmasının tesadüf olmadığını düşündürmektedir. Mide kanseri için bir diğer çevresel faktör sigara kullanımınıdır. Sigara kullanımı ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları farklılık göstermektedir.

Çalışmaların bir kısmı sigaranın mide kanseri üzerine etkisinin doza bağlı olarak artırıcı olduğunu gösterirken bir kısmı da sigara ve mide kanseri arasında ilişki kurulamayacağını göstermektedir (Tredaniel ve diğ., 1997; Kelley ve Duggan, 2003). Bu çalışmada sigara kullanma açısından hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında sigara kullanmanın hastalık için bir risk faktörü olduğu düşünülmüştür. Ancak bu durum hasta grubunda sigara kullanan birey sayısının kontrole göre fazla olmasından kaynaklanıyor olabileceğinden hasta ve kontrol grubu sigara kullananlar ($p=0,865$) ve kullanmayanlar ($p=0,369$) arasında tekrar karşılaştırılmış ve genotip dağılımı açısından da değerlendirilmiştir ancak bu kez ilişki kurulamamıştır.

Yapılan PZR-RFLP çalışmalarının sonucunda mide kanser hastalarının dört tanesinde normal ve tümör dokularının farklı genotiplere sahip olduğu görüldü. Bu sonuç hasta grubuna ait normal mide ve tümörlü doku arasında genotipik açıdan istatistiksel bir fark olma ihtimalini düşündürdüğü için hasta grubunun normal mide dokusu ve tümörlü doku genotipi çapraz tablosu oluşturularak ki-kare bağımsızlık testi uygulandı bunun sonucunda p değeri 0,00 çıktığı için Cramer's V analizi uygulandı ve hasta grubunun normal mide dokusu ve tümörlü dokusu arasında anlamlı uyum bulundu (Cramer's $V= 0,843$). Bu sonucun doğrultusunda yapılan diğer genotip karşılaştırmalarında hasta grubu genotipi için normal mide dokusu genotipi kullanıldı. Hasta grubu ve kontrol grubu genotipi ki-kare analizlerinin sonucunda üç genotip ve hastalık arasında ilişki kurulamadı (AA: $p=0,573$, AG: $p=0,774$, GG: $p=0,814$). Literatürde mide kanserinin bu polimorfizmle ilişkisini inceleyen bir çalışmada daha ilişki kurulamamıştır (Kim ve diğ., 2011). Ancak yapılan diğer polimorfizm çalışmalarında AG ve GG polimorfizminin hasta grubunda kontrole göre daha fazla görülmesi nedeniyle yapılan ilişkilendirme analizleri sonucunda bu iki genotipin hastalıkla ilişkili olduğunun vurgulanması (Malik ve diğ., 2010, Sugimoto ve diğ., 2008) bu çalışmanın sonucunda bu polimorfizmin Türk populasyonunda hastalıkla ilişkili olmadığını düşündürmüştür. Ancak elde edilen sonucun bu doğrultuda olmasının nedeninin örnek sayısının azlığı olma ihtimali de göz ardı edilmemelidir.

Ki-kare testleri sonucunda hasta grubu dağılımlarını mide kanserini etkileyen diğer faktörler ile birlikte değerlendirmek ve göreceli orantıları elde etmek için lojistik regresyon analizi yapılmıştır.

Bu görelî orantı değerleri, hastalık ile ilişkili olduğu bilinen ve ki-kare testlerinde de anlamlı farklar görölen çevresel faktörlere (sigara içimi ve cinsiyet) göre düzeltilmiştir. Yaş faktörü ise kontrol ve hasta gruplarının yaş ortalamalarının hastalığın görölme sıklığının yoğun olduğu aralıkta olması (40-60) dolayısıyla değerlendirilmeye alınmıştır. Lojistik regresyon analizi sonucunda yaş, cinsiyet ve sigara kullanmanın hastalık üzerine genotiple birlikte bir ilişkisi olmadığı gözlenmiştir (Tablo 5.11).

Hasta grubu kendi içinde AA, AG ve GG genotiplerinin cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı, ailesel hikaye, tümör nekrozu, HG, invazyon derinliği, *H.pilori* kategorik değişkenleri açasından karşılaştırılması Pearson kıkare ve Fischer Exact olasılık testleri ile yapılmıştır ve Cinsiyet ile hasta grubuna ait normal doku genotipi ($p=0,025<0.05$) arasında ve tümörlü doku genotipi ($p=0,031<0.05$) arasında anlamlı ilişki gözlenirken diğer hiçbir kategorik değişken açasından ilişki kurulamamıştır.

Bütün bu verilerin ışığında MMP-7 -181 A/G polimorfizmiyle mide kanseri arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Ancak bu sonuç örnek sayısına bağlı olarak değişebileceğinden örnek sayısı artırılarak sonuçlar geliştirilebilir.

7. KAYNAKLAR

Achyut B.R., Uday C. Ghoshal, Nikhil Moorchung, and Balraj Mittal. (2009). Transforming Growth Factor-B1 and Matrix Metalloproteinase-7 Promoter Variants Induce Risk for Helicobacter pylori–Associated Gastric Precancerous Lesions. DNA AND CELL BIOLOGY 28: 6

Akagi M, Kawaguchi M, Liu W, McCarty MF, Takeda A, Fan F, Stoeltzing O, Parikh AA, Jung YD, Bucana CD, Mansfi eld PF, Hicklin DJ, Ellis LM.(2003). Induction of neuropilin-1 and vascular endothelial growth factor by epidermal growth factor in human gastric cancer cells. Br J Cancer. 88: 796-802

Akama Y, Yasui W, Yokozaki H, Kuniyasu H, Kitahara K, Ishikawa T, Tahara E. (1995). Frequent amplification of the cyclin E gene in human gastric carcinomas. Jpn J Cancer Res 86: 617-621

Allum WH. Powell DJ, Mc Conkey CC.et al. (1989). Gastric Cancer: a 25 year-review. Br J Surg. 76: 535-540.

Ando T, Yoshida T, Enomoto S, Asada K, Tatematsu M, Ichinose M, Sugiyama T, Ushijima T.(2009). DNA methylation of microRNA genes in gastric mucosae of gastric cancer patients: its possible involvement in the formation of epigenetic field defect. Int J Cancer 124: 2367-2374

Arı A. (2006). Histolojik olarak mide kanseri ile *Helicobacter pylori* arasındaki ilişki. Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim Hastanesi II.Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul.

Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, et al. (1995). Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. J Biol Chem. 270(30): 17771-7.

Atherton JC. Peek R M. Tham KT. (1997). Clinical and pathological importance of heterogeneity in *vac A*, the vacuolating cytotoxin gene of *Helicobacter Pylori*. Gastroenterology. 112: 92-99.

Beaudeau JL, Giral P, Bruckert E, Foglietti MJ, Chapman MJ.(2004). Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: Therapeutic perspectives. Clin Chem Lab Med 42: 121-31.

Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, Becker I, Nekarada H, Siewert JR, Hofl er H.(1994). E-kaderin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. Cancer Res 54: 3845-3852

- Behrens J, von Kries JP, Kuhl M, Bruhn L, Wedlich D, Grosschedl R, et al. (1996). Functional interaction of betacatenin with the transcription factor LEF-1. *Nature*. 382:638-42.
- Birkedal-Hansen H. (1993). Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol* 64: 474-484.
- Blaser MJ. (1994) *Helicobacter pylori* phenotypes associated with peptic ulceration. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 205:1-5.
- Blaser MJ.(1998). *H.Pylon* and gastric diseases, science. medicine and future. *BMJ*, 316:1507-1510.
- Bozzetti F, Marubini E, Bonfanti G,. (1999). Subtotal versus total gastrectomy for gastric cancer: Five years survival rates in a multicenter randomized Italian trial. Italian Gastrointestinal Tumor Study Group. *Ann Surg* 230: 170-8.
- Brinckerhoff CE, Matrisian LM.(2002). Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3: 207-214.
- Brody T. (1999). *Nutritional Biochemistry*. 2nd ed. San Diego: Academic Press
- Cahill RJ, Kilgallen C, Beattie S, Hamilton H, O'Morain C. (1996) Gastric epithelial cell kinetics in the progression from normal mucosa to gastric carcinoma. 38: 177
- Carmeliet P, Moons L, Lijnen R, et al. (1997). Urokinasegenerated plasmin activates matrix metalloproteinases during aneurysm formation. *Nat Genet* 17: 439-44.
- Charnley G, Tannenbaum SR. (1985). Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat. *Cancer Res.* 45: 5608-16.
- Correa P. (1985) Clinical implications of recent development in gastric cancer pathology and epidemiology. *Semin Oncol.* 12:2-10.
- Crawford HC, Fingleton B, Gustavson MD, Kurpios N, Wagenaar RA, Hassell JA, et al. (2001). The PEA3 subfamily of Ets transcription factors synergizes with betacatenin- LEF-1 to activate matrilysin transcription in intestinal tumors. *Mol Cell Biol.* 21: 1370-83.
- Crawford HC, Fingleton BM, Rudolph-Owen LA, Goss KJ, Rubinfeld B, Polakis P, et al. (1999). The metalloproteinase matrilysin is a target of beta-catenin transactivation in intestinal tumors. *Oncogene* 18: 2883-91.
- Crew KD, Neugut AI.(2006). Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol.*12: 354-362.
- Danesh J. (1999). *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer: systematic review of the epidemiological studies. *Aliment Pharmacol Ther.* 13: 851-856

Davies GR. (1994) Simmonds NJ, Stevens TR, Sheaff MT, Banatvala N, Laurenson IF, Blake DR, Rampton DS. *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. 35: 179-185

Demirer TJ. F.Uzunalimoğlu O, Küçük O. (1990). Diet and Stomach cancer incidence.A case-control study in Turkey.Cancer Inst. 65: 2344-48.

Dollery CM, McEwan JR, Henney AM.(1995). Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. Circ Res.177: 863-8.

Dooley CP. (1993).Background and historical considerations of *Helicobacter pylori*. Gastroenterol Clin North Am. 22(1):1-4

Egeblad M, Werb Z (2002) New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. Nat Rev Cancer 2: 161–174

Eslick GD, Lim LL, Byles JE, Xia HH, Talley NJ. (1999). Association of *Helicobacter pylori* infection with gastric carcinoma: a meta-analysis. Am J Gastroenterol. 94: 2373-2379

Fadiel Alicia Beeghly, Wei Zheng, Wei Lu, Jirong Long, Ying Zheng, Hui Cai, Kai Gu, Zhi Chen, Qiuyin Cai, Yu-Tang Gao, Xiao Ou Shu. (2012). Replication study for reported SNP associations with breast cancer survival. J Cancer Res Clin Oncol. 138: 1019–1026

Fadiel Alicia Beeghly, Yong-Bing Xiang, Sandra L. Deming, et al. (2009). MMP-3 and MMP-7 SNPs and Endometrial Cancer Risk No Association between Matrix Metalloproteinase (MMP)-1. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 18: 1925-1928.

Fang YZ, Yang S, Wu G. (2002) Free radicals, antioxidants and nutrition. Nutrition. 18:872-9

Fleisher AS, Esteller M, Wang S, Tamura G, Suzuki H, Yin J, Zou TT, Abraham JM, Kong D, Smolinski KN, Shi YQ, Rhyu MG, Powell SM, James SP, Wilson KT, Herman JG, Meltzer SJ. (1999). Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter in human gastric cancers with microsatellite instability. Cancer Res 59: 1090-1095

Forman D.(1995). Prevalance of *H.pylori* infection in gastric cancer. Alimentary Pharmacol 9: 71 -76.

Futreal PA. Kasprzyk A. Birney E.Mullikin JC. Wooster R. Stratton M. (2001). Cancer and genomics. Nature 6822: 850-2

Gaire M, Magbanua Z, McDonnell S, McNeil L, Lovett DH. (1994). Matrisian LM. Structure and expression of the human gene for the matrix metalloproteinase matrilysin. J Biol Chem 269: 2032-40.

Galis ZS, Khatri JJ. (2002). Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly. Circ Res 90: 251-62.

Gencer s, Irmak-Yazıcıoğlu M.B. (2011). Differential response of gastric carcinoma MKN-45 and 23132/87 cells to H₂O₂ exposure. Turk J Gastroenterol. 22 (2): 145-151

Gencer S., Cebeci A., Irmak-Yazicioglu M.B. (2013). Matrix metalloproteinase gene expressions might be oxidative stress targets in gastric cancer cell lines. Chin J Cancer Res. 25(3):322-333

Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. (1986) Campylobacter pyloridis, gastritis and peptic ulceration. J Clin Pathol. 39(4):353-65.

Graham DY, Adam E, Reddy GT, et al.(1991). Seroepidemiology of Helicobacter pylori infection of developing and developed countries. Dig Dis Sci 36: 1084-1388.

Gümürdülü Y, Taşdoğan BE.(2009). Peptik Duodenal ve Mide Ülserler Aynı mı Değil mi? Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol Special Topics 2(3):14-18

Halliwell B, Aruoma OI. (1991). DNA damage by oxygen-derived species; Its mechanism and measurement in mammalian systems. FEBS letters 281:9-19.

Hamilton JP, Meltzer SJ. (2006). A review of the genomics of gastric cancer. Clin Gastroenterol Hepatol. 4: 416-25.

Handschuh G, Candidus S, Luber B, Reich U, Schott C, Oswald S, Becke H, Hutzler P, Birchmeier W, Hofl er H, Becker KF. (1999). Tumour-associated E-cadherin mutations alter cellular morphology, decrease cellular adhesion and increase cellular motility. Oncogene 18: 4301-4312

Hatakeyama M. (2004). Oncogenic mechanisms of the Helicobacter pylori CagA protein. Nat Rev Cancer. 4: 688-694

Hayashi K, Yokozaki H, Goodison S, Oue N, Suzuki T, Lotan R, Yasui W, Tahara E. (2001). Inactivation of retinoic acid receptor beta by promoter CpG hypermethylation in gastric cancer. Differentiation . 68: 13-21

Heynick L.N. Johnston S.A. Mason P.A. (2003). Radio Frequency Electromagnetic Fields: Cancer, Mutagenesis, and Genotoxicity. Bioelectromagnetics S6: 74-100

Higashikawa K, Yokozaki H, Ue T, Taniyama K, Ishikawa T, Tarin D, Tahara E.(1996). Evaluation of CD44 transcription variants in human digestive tract carcinomas and normal tissues. Int J Cancer. 66: 11-17

Hoekstra R, Eskens FA, Verweij J. (2001). Matrix metalloproteinase inhibitors: Current developments and future perspectives. Oncologist 6: 415-27.

Hofman P, Waidner B, Hofman V, Bereswill S, Brest P, Kist M.(2004) Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter 1: 15-22

Houben GMP, Stockbrugger RW. (1995). Bacteria in etiopathogenesis of gastric cancer. A review. *Scand J Gastroenterol*; suppl 212:13-18.

Huang JQ, Zheng GF, Sumanac K, Irvine EJ, Hunt RH. (2003). Meta-analysis of the relationship between *cagA* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology*. 125: 1636-1644.

Li M, Yamamoto H, Adachi Y, Maruyama Y, Shinomura Y (2006). Role of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human cancer invasion, apoptosis, growth, and angiogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* 231: 20–27

Isogaki J, Shinmura K, Yin W, Arai T, Koda K, Kimura T, Kino I, Sugimura H. (1999). Microsatellite instability and K-ras mutations in gastric adenomas, with reference to associated gastric cancers. *Cancer Detect Prev*. 23: 204-214

Ito R, Kitadai Y, Kyo E, Yokozaki H, Yasui W, Yamashita U, Nikai H, Tahara E.(1993). Interleukin 1 alpha acts as an autocrine growth stimulator for human gastric carcinoma cells. *Cancer Res*. 53: 4102-4106

Jacob MP, Badier-Commander C, Fontaine V, Benazzoug Y, Feldman L, Michel, JB. (2001). Extracellular matrix remodeling in the vascular wall. *Pathol Biol* 49: 326-32.

Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Murray T., Thun M.J. (2008). Cancer Statistics, *CA Cancer J Clin*, 58: 71-96

Jormsjö S., Carl Whatling, Dirk H. Walter, Andreas M. Zeiher, Anders Hamsten and Per Eriksson. (2001). Allele-Specific Regulation of Matrix Metalloproteinase-7 Promoter Activity Is Associated With Coronary Artery Luminal Dimensions Among Hypercholesterolemic Patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.21: 1834-1839

Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O. (1998). *Temel Histoloji*. Aytekin Y.(Çev). Barış Kitabevi

Kapan M. (11-12 Ocak 2001). Mide kanseri. Tanı ve cerrahi tedavi. Gastrointestinal sistem hastalıkları sempozyumu. İstanbul, s: 253-269

Katoh M, Hattori Y, Sasaki H, Tanaka M, Sugano K, Yazaki Y, Sugimura T, Terada M.(1992). K-sam gene encodes secreted as well as transmembrane receptor tyrosine kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 2960-2964

Kawanishi J, Kato J, Sasaki K, Fujii S, Watanabe N, Niitsu Y.(1995). Loss of E-cadherin-dependent cell-cell adhesion due to mutation of the beta-catenin gene in a human cancer cell line, HSC-39. *Mol Cell Biol*. 15: 1175-1181

Keller G, Grimm V, Vogelsang H, Bischoff P, Mueller J, Siewert JR, Hofler H. (1996). Analysis for microsatellite instability and mutations of the DNA mismatch repair gene hMLH1 in familial gastric cancer. *Int J Cancer* 68: 571-576

Kelley JR, Duggan JM. (2003). Gastric cancer epidemiology and risk factors. *Journal of Clinical Epidemiology*. 56: 1-9

Kim JH, Jung-A Pyun, Kwang Jae Lee, Sung Won Cho and Kyu Bum Kwack (2011). Study on Association between Single Nucleotide Polymorphisms of *MMP7*, *MMP8*, *MMP9* Genes and Development of Gastric Cancer and Lymph Node Metastasis. *Korean J Gastroenterol* 58: 5, 245-251

Kim JP, Lee JH, Kim SJ, Yu HJ, Yank HK. (1998). Clinicopathologic characteristics and prognostic factors in 10783 patients with gastric cancer. *Gastric Cancer* 1:125-33.

Kim SS, Ruiz ve, Carroll JD, Moss SF. (2011). *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of gastric cancer and gastric lymphoma. *Cancer Lett* 305: 228-238

Kim TY, Lee HJ, Hwang KS, Lee M, Kim JW, Bang YJ, Kang GH.(2004). Methylation of *RUNX3* in various types of human cancers and premalignant stages of gastric carcinoma. *Lab Invest* 84: 479-484

Kitadai Y, Haruma K, Mukaida N, Ohmoto Y, Matsutani N, Yasui W, Yamamoto S, Sumii K, Kajiyama G, Fidler IJ, Tahara E. (2000). Regulation of disease-progression genes in human gastric carcinoma cells by interleukin 8. *Clin Cancer Res.* 6: 2735-2740

Kitadai Y, Haruma K, Sumii K, Yamamoto S, Ue T, Yokozaki H, Yasui W, Ohmoto Y, Kajiyama G, Fidler IJ, Tahara E.(1998). Expression of interleukin-8 correlates with vascularity in human gastric carcinomas. *Am J Pathol* 152: 93-100

Kono S, Hiroto T. (1996). Nutrition and stomach cancer. *Cancer Causes Control* 7: 41-55

Kuipers E.J., Pena A.S., Festen H.P.M., Meuwissen S.G.M., Uytterlinde A.M., Roosendaal R., Pals G., Nelis G.F. (1995). Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. *The Lancet* 345: 1525–1528

Kuipers EJ. (1999). Exploring the link between *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 13:3-11.

Kumar V., Cotran RS., Robbins SL. (2000). *Temel Patoloji*. Çevikbaş V.(Çev). (6. Baskı), Elma Basım ve Nobel Kitabevi, İstanbul

Kuniyasu H, Yasui W, Kitadai Y, Yokozaki H, Ito H, Tahara E. (1992). Frequent amplification of the *c-met* gene in scirrhous type stomach cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 189: 227-232

Kuniyasu H, Yasui W, Yokozaki H, Kitadai Y, Tahara E.(1993). Aberrant expression of *c-met* mRNA in human gastric carcinomas. *Int J Cancer.* 55: 72-75

Kuniyasu H, Yoshida K, Yokozaki H, Yasui W, Ito H, Toge T, Ciardiello F, Persico MG, Saeki T, Salomon DS. (1991). Expression of *cripto*, a novel gene of the epidermal growth factor family, in human gastrointestinal carcinomas. *Jpn J Cancer Res.* 82: 969-973

Kuzuya M, Iguchi A.(2003). Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb* 10: 275-82.

La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, et al. (1992). Family history and the risk of stomach and colorectal cancer. *Cancer*. 70(1): 50-5.

Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. (2004). TIMPs as multifacialproteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 49: 187-98.

Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409: 860-921.

Landis SH. Murray T.Bolden S, Wingo PA. (1999). Cancer statistics, *Cancer J Clin*. 49: 78-80

Lee KH, Lee JS, Suh C, Kim SW, Kim SB, Lee JH, Lee MS, Park MY, Sun HS, Kim SH. (1995). Clinicopathologic significance of the K-ras gene codon 12 point mutation in stomach cancer. An analysis of 140 cases. *Cancer* 75: 2794-2801

Leonarda L., Gunderson John H.Donohue, Patrick A. Burch. (2000). Clinical onkology

Levine PH, Stemmermann GN, Lennette ETet al. (1995). Elevated anti body titers to Epstein-Barr virus prior to the diagnosis of *Epstein-Barr* associated gastric adenocarcinoma. *Int J Cancer*. 60:642-644

Lin HM, Teitell MA.(2005). Second malignancy after treatment of pediatric Hodgkin disease. *J Pediatr Hematol Oncol*. 27: 28-36

Lynch CC, Crawford HC, Matrisian LM, McDonnell S. (2004). Epidermal growth factor upregulates matrix metalloproteinase-7 expression through activation of PEA3 transcription factors. *Int J Oncol* 24: 1565-72.

Ma YY, Tao HQ. (2012). Microribonucleic acids and gastric cancer. *Cancer*. 103: 620-625

Malaty HM., Graham DY., Isaaksson I, et al.(1998) A Cotwin study of the effected environment on *Helicobacter pylori* acquisition. *Am J Epidemiol* 148: 793-797.

Malik Manzoor Ahmad, Showket Ali Zargar, Balraj Mittal (2010). Role of the Metalloproteinase-7 (181A>G) Polymorphism in Gastric Cancer Susceptibility: A Case Control Study in Kashmir Valley. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 11: 73-76

Masiakowski P, Breathnach R, Bloch J, Gannon F, Krust A, Chambon P. (1982). Cloning of cDNA sequences of hormoneregulated genes from the MCF-7 human breast cancer cell line. *Nucleic Acids Res*. 10: 7895-7903

Matsushima K, Isomoto H, Inoue N, Nakayama T, Hayashi T, Nakayama M, Nakao K, Hirayama T, Kohno S.(2011). MicroRNA signatures in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Int J Cancer* 128: 361-370

Mishra Avshesh, Anshika Srivastava, T. Mittal, N. Garg, B. Mittal. (2012). Association of matrix metalloproteinases (MMP2, MMP7 and MMP9) genetic variants with left ventricular dysfunction in coronary artery disease patients. *Clinica Chimica Acta* 413: 1668–1674

Mowat C, Carswell A, Wirz A, et al. (1999). Omeprazole and dietary nitrate independently affect levels of vitamin C and nitrite in gastric juice. *Gastroenterology*. 116: 813-22.

Muller D, Quantin B, Gesnel MC, Millon-Collard R, Abecassis J, Breathnach R (1988) The collagenase gene family in humans consists of at least four members. *Biochem J* 253:187–192

Murphy G, Willenbrock F, Crabbe T, et al. (1994). Regulation of matrix metalloproteinase activity. *Ann NY Acad Sci*. 732: 31-41.

Nagase H, Woessner JF Jr.(1999). Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 274:21491-21494.

Nagase H. (1997). Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 378: 151-60.

Nakatsuru S, Yanagisawa A, Furukawa Y, Ichii S, Kato Y, Nakamura Y, Horii A. (1993). Somatic mutations of the APC gene in precancerous lesion of the stomach. *Hum Mol Genet*. 2: 1463-1465

Nakatsuru S, Yanagisawa A, Ichii S, Tahara E, Kato Y, Nakamura Y, Horii A.(1992). Somatic mutation of the APC gene in gastric cancer: frequent mutations in very well differentiated adenocarcinoma and signet-ring cell carcinoma. *Hum Mol Genet*. 1: 559-563

Nakayama H, Yasui W, Yokozaki H, Tahara E. (1993). Reduced expression of nm23 is associated with metastasis of human gastric carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 84: 184-190

Netter F.H. (2002) İnsan Anatomi Atlası. Cumhuriyet M.(Çev). Palme Yayıncılık, Ankara

Nomura A, Stemmeman GN, Chyou P, et al. (1991). *H.Pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* 325:1332- 1336.

Oda N, Tsujino T, Tsuda T, Yoshida K, Nakayama H, Yasui W, Tahara E. (1990). DNA ploidy pattern and amplification of ERBB and ERBB2 genes in human gastric carcinomas. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 58: 273-277

Overall C.M. ve López-Otín C. (2002). Strategies for MMP inhibition in cancer : innovations for the post-trial era. *Nature Publishing Group*. 2: 657-672

- Park SY, Kook MC, Kim YW, Cho NY, Jung N, Kwon HJ, Kim TY, Kang GH.(2010). CpG island hypermethylator phenotype in gastric carcinoma and its clinicopathological features. *Virchows Arch* 457: 415-422
- Parsonnet J, Vandersteen D, Goates J. et al. (1991). *Helicobacter pylori* in intestinal and diffuse type gastric adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst.*, 83: 640
- Parsonnet J. (1995). The incidence of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 9: 45-51.
- Parsonnet J., Isaacson PG. (2004). Bacterial infection and MALT lymphoma. *N Engl J Med* 350:213-5.
- Peng S, Kuang Z, Sheng C, Zhang Y, Xu H, Cheng Q. (2010). Association of microRNA-196a-2 gene polymorphism with gastric cancer risk in a Chinese population. *Dig Dis Sci.* 55: 2288-2293
- Perez-Perez GI, Bosques-Padilla FJ, Crosatti ML, Tijerina-Menchaca R, Garza-Gonzalez E. (2005). Role of p53 codon 72 polymorphism in the risk of development of distal gastric cancer. *Scand J Gastroenterol.* 40: 56-60
- Perrin D, Ruskin HJ, Niwa T. (2010). Cell type-dependent, infection-induced, aberrant DNA methylation in gastric cancer. *J Theor Biol.* 264: 570-577 33
- Quantin B, Murphy G, Breathnach R (1989) Pump-1 cDNA codes for a protein with characteristics similar to those of classical collagenase family members. *Biochemistry* 28: 5327–5334
- Risch, N.J. (2000). Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*, 405: 847-856.
- Ruiz B, Correa P, Foníham ETH, Ramaknshnan T. (1996). Antral atrophy, *Helicobacter Pylon*, colonization and gastric pH. *Am J Clin Pathol*, 105: 96- 101.
- Sachs G. ve Scott D.R. (2012). *Helicobacter pylori*: Eradication or Preservation. *F1000 Medicine Reports* 4: 7 (doi:10.3410/M4-7)
- Sahu SC. (1990). Onkogenes, onkogenesis and oxygen radicals. *Biomed Environ Sci* 2: 183-201.
- Sakakura C, Hagiwara A, Miyagawa K, Nakashima S, Yoshikawa T, Kin S, Nakase Y, Ito K, Yamagishi H, Yazumi S, Chiba T, Ito Y. (2005). Frequent downregulation of the runt domain transcription factors RUNX1, RUNX3 and their cofactor CBFβ in gastric cancer. *Int J Cancer* 113: 221-228
- Sapari NS, Loh M, Vaithilingam A, Soong R. (2012). Clinical potential of DNA methylation in gastric cancer: a meta-analysis. *PLoS One*; 7: e36275

Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1994; 61: 1-241

Semba S, Yokozaki H, Yasui W, Tahara E.(1998). Frequent microsatellite instability and loss of heterozygosity in the region including BRCA1 (17q21) in young patients with gastric cancer. *Int J Oncol* 12: 1245-1251

Smith M.G., Hold G.L., Tahara E., El-Omar E.M. (2006). Cellular and molecular aspects of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 12(19): 2979-2990

Smith ME, Pignatelli M. (1997). The molecular histology of neoplasia: the role of the cadherin/catenin complex. *Histopathology.* 31: 107-111

Snell R.S. (1995). Tıp fakültesi öğrencileri için Klinik Anatomi Yıldırım M. (Çev). (5. Baskı) Nobel ve Yüce

Srivastava Priyanka, Ruchika Gangwar, Rakesh Kapoor and Rama D. Mittal. (2010). Bladder cancer risk associated with genotypic polymorphism of the matrix metalloproteinase 1 and 7 in North Indian population. *Disease Markers* 29: 37–46

Sugimoto M., Furuta T., Kodaira C., Nishino M., Yamada M., Ikuma M., Sugimura H. and Hishida A. (2008). Polymorphisms of matrix metalloproteinase-7 and chymase are associated with susceptibility to and progression of gastric cancer in Japan. *J Gastroenterol.* 43: 751–761

Sugimura T, Fujimura S, Baba T. (1970). Tumor production in the glandular stomach and alimentary tract of the rat by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Res.* 30: 455-465

Sun X, Mu R, Zhou Y, Dai X, Qiao Y, Zhang S, Huangfu X, Sun J, Li L, Lu F. (2002). 1990-1992 mortality of stomach cancer in China. *Zhonghua Zhongliu Zazhi,* 24: 4-8

Susan T. Joan B. Dwigth T. (1999). Familial cancer history and lung cancer risk in United States nonsmoking men and women. *Cancer Epidemiology Biomarkers-Prevention,* 8: 1065-9

Suzuki H, Miura S, Imaeda H, Suzuki M, Han JY, Mori M, Fukumura D, Tsuchiya M, Ishii H.(1996). Enhanced levels of chemiluminescence and platelet activating factor in urease-positive gastric ulcers. *Free Radic Biol Med.* 20: 449-454

Suzuki H, Nishizawa T, Tsugawa H, Mogami S, Hibi T.(2012). Roles of oxidative stress in stomach disorders. *J Clin Biochem Nutr* 50: 35-39

Suzuki T, Yasui W, Yokozaki H, Naka K, Ishikawa T, Tahara E. (1999). Expression of the E2F family in human gastrointestinal carcinomas. *Int J Cancer.* 81: 535-538

Tahara E. (2004). Genetic pathways of two types of gastric cancer. *IARC Sci Publ* 327-349

- Tanimoto H, Yoshida K, Yokozaki H, Yasui W, Nakayama H, Ito H, Ohama K, Tahara E. (1991). Expression of basic fibroblast growth factor in human gastric carcinomas. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol.* 61: 263-267
- Tarblil NJ, Gelber RD, Weinstein HJ. (1993). Sex differences in second cancer after Hodgkin's disease in childhood. *Lancet*, 341: 1428-1430
- Thibodeau SN, French AJ, Roche PC, Cunningham JM, Tester DJ, Lindor NM, Moslein G, Baker SM, Liskay RM, Burgart LJ, Honchel R, Halling KC.(1996). Altered expression of hMSH2 and hMLH1 in tumors with microsatellite instability and genetic alterations in mismatch repair genes. *Cancer Res.* 56: 4836-4840
- Torres WJ, VanCompernelle SE, Sundrud MS, Unutmaz D, Cover TL.(2007). *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits activation-induced proliferation of human T and B lymphocyte subsets. *J Immunol.* 179: 5433-5440.
- Tredaniel J, Boffetta P, Buiatti E et al. (1997). Tobacco smoking and gastric cancer: review and meta-analysis. *Int J cancer.* 72: 565-573
- Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Derneği (2013). *Türkiyede Kanser İstatistikleri*. Ankara: Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Derneği
- van Doorn LJ, Figueiredo C, Rossau R, et al. (1998). Typing of *Helicobacter pylori vacA* gene by PZR and reverse hybridization. *J Clin Microbiol.* 36(5): 1271-6.
- Vihinen P, Kahari VM.(2002). Matrix metalloproteinases in cancer: Prognostic markers and therapeutic targets. *Int J Cancer* 99: 157-66.
- Visse R, Nagase H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 92:827-39.
- Weber GF, Ashkar S, Glimcher MJ, Cantor H. (1996). Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1). *Science* 271: 509-512
- Wijnhoven BP, Dinjens WN, Pignatelli M. (2000). E-cadherin-catenin cell-cell adhesion complex and human cancer. *Br J Surg* 87: 992-1005
- Williams GM. (1992). DNA reactive and epigenetic carcinogens. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 44: 457– 64.
- Williams GM. (2001). Mechanisms of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. *Toxicology*, 14: 166 (1-2):3-10.
- Wilson CL, Matrisian LM (1996) Matrilysin: an epithelial matrix metalloproteinase with potentially novel functions. *Int J Biochem Cell Biol* 28: 123–136
- Wroblewski LE, Shen L, Ogden S, Romero-Gallo J, Lapierre LA, Israel DA, Turner JR, Peek RM. (2009). *Helicobacter pylori* dysregulation of gastric epithelial tight junctions by ureasemediated myosin II activation. *Gastroenterology* 136: 236-246

Yamamoto S, Yasui W, Kitadai Y, Yokozaki H, Haruma K, Kajiyama G, Tahara E. (1998). Expression of vascular endothelial growth factor in human gastric carcinomas. *Pathol Int.* 48: 499-506

Yamamoto S.(2001). Stomach cancer incidence in the world. *Jpn J Clin Oncol.*31: 471-477.

Yao Y, Tao H, Park DI, Sepulveda JL, Sepulveda AR.(2006). Demonstration and characterization of mutations induced by *Helicobacter pylori* organisms in gastric epithelial cells. *Helicobacter.* 11: 272-286

Yasui W, Hata J, Yokozaki H, Nakatani H, Ochiai A, Ito H, Tahara E. (1988). Interaction between epidermal growth factor and its receptor in progression of human gastric carcinoma. *Int J Cancer.* 41: 211-217

Ye S., N. Patodi, K. Walker-Bonet, I. Readingt, C. Coopert ve E. Dennisont. (2007). Variation in the matrix metalloproteinase-3, -7, -12 and -13 genes is associated with functional status in rheumatoid arthritis. Blackwell Publishing Ltd, *International Journal of Immunogenetics* 34: 81–85

Yi Yu-Chiao, Pai-Ta Chou, Ling-Yun Chen, Wu-Hsien Kuo, Esther Shih-Chu Ho, Chih Ping Han, and Shun-Fa Yang. (2010). Matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) polymorphism is a risk factor for endometrial cancer susceptibility. *Clin Chem Lab Med* 48(3):337–344

Yokota J, Yamamoto T, Miyajima N, Toyoshima K, Nomura N, Sakamoto H, Yoshida T, Terada M, Sugimura T. (1988). Genetic alterations of the c-erbB-2 oncogene occur frequently in tubular adenocarcinoma of the stomach and are often accompanied by amplification of the v-erbA homologue. *Oncogene* 2: 283-287

Yokozaki H, Ito R, Nakayama H, Kuniyasu H, Taniyama K, Tahara E. (1994). Expression of CD44 abnormal transcripts in human gastric carcinomas. *Cancer Lett* 83: 229-234

Yokozaki H, Kuniyasu H, Kitadai Y, Nishimura K, Todo H, Ayhan A, Yasui W, Ito H, Tahara E.(1992). p53 point mutations in primary human gastric carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol.* 119: 67-70

Yokozaki H, Shitara Y, Fujimoto J, Hiyama T, Yasui W, Tahara E. (1999). Alterations of p73 preferentially occur in gastric adenocarcinomas with foveolar epithelial phenotype. *Int J Cancer.* 83: 192-196

Yokus B, Akdag M.Z. Dasdag S. Cakir D.U, Kizil M.(2008). Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields Cause Oxidative DNA Damage in Rats. *International Journal of Radiation Biology*, 8 (10), 789-795.

Yokus B., Çakır D.Ü. (2012). Kanser Biyokimyası. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 1(2): 7-18

Yokuş B. Çakır DÜ. (2002) İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri; 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi.5: 535-43.

Zabaleta J. (2012). Multifactorial etiology of gastric cancer. *Methods Mol Biol.* 863: 411-435

Zanghieri, G., Di Gregorio, C., Sacchetti, C. (1990). Familial occurrence of gastric cancer in the 2 year experience of a population –based registry. *Cancer.* 66: 2047–2051.

Zhang Jianhui, Xia Jin, Shumei Fang, Rui Wang¹, Yan Li, Na Wang, Wei Guo, Yimin Wang, Denggui Wen, Lizhen Wei, Zhiming Dong and Gang Kuang (2005). The functional polymorphism in the matrix metalloproteinase-7 promoter increases susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma, gastric cardiac adenocarcinoma and non-small cell lung carcinoma. *Carcinogenesis.* 26: 1748–1753.

İnternet

İnsan Anatomi Atlası.(2012). Erişim Tarihi: 15 Mayıs 2013,

<http://tipdersnotlari.blogspot.com/2012/11/mide-anatomisi-online-anatomi-atlas.html>

8. ÖZGEÇMİŞ

Ayşe Deha Ketenci, 1986 yılında İstanbul'da doğdu. 2004 yılında Özel Çukurova Bilfen Koleji Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'nden mezun olduktan sonra 2006 yılında Atatürk Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde başladığı yüksek öğrenimini 2010 yılında tamamladı.

Yüksek lisans eğitimine 2011 yılında Haliç Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'ne girerek devam etti.