

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

**MİDE KANSERLERİNDE MATRİS  
METALLOPROTEİNAZ-8  
GENİNDE C-799T POLİMORFİZMİNİN ANALİZİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Hazırlayan  
Burcu GÜRBÜZ**

**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-8  
GENİNDE C-799T POLİMORFİZMİNİN ANALİZİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Hazırlayan  
Burcu GÜRBÜZ**

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

**İstanbul – 2013**

**T.C.**  
**HALIÇ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

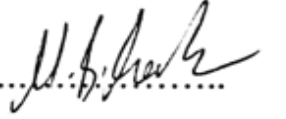
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı Tezli Yüksek Lisans öğrencisi **Burcu GÜRBÜZ** tarafından hazırlanan “**Mide Kanserlerinde MMP-8 Geninde C-799T Polimorfizminin Analizi**” adlı bu çalışma jürimizce Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

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, 2011-2013 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 eğitimim süresince yardım ve desteğini esirgemeyen, her zaman hoşgörülü olan, her konuda rahatlıkla ulaşıp danıştığım, bilgi ve tecrübesiyle her zaman yol gösterici olan değerli danışman hocam Doç. Dr. M. Burcu IRMAK YAZICIOĞLU' na,

Tez dönemi boyunca göstermiş olduğu anlayışı, deneyimlerini, ve dostluğunu esirgemeyen Ar. Gör. Anıl Cebeci' ye aynı zamanda desteklerini hissettiren Ar. Gör. Deniz Kanca, Yrd. Doç. Dr. Özlem Kurnaz Gömlüksiz ve Ar. Gör. Ozan Tiryakioğlu' na ,

Berber çalışmaktan ve tanışmaktan mutluluk duyduğum, her zaman acısıyla tatlısıyla yanımda olan sevgili arkadaşım Ayşe Deha Ketenci' ye,

Ayrıca bu aşamaya gelmemde en büyük emeği olan, ideallerim için mücadele etmeyi öğreten, her zaman ve her koşulda bana güvenip sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan başta annem Hülya GÜRBÜZ ve babam Ömer Turgut GÜRBÜZ olmak üzere, ablam Zümrüt GÜRBAŞ, ağabeyim Fatih GÜRBÜZ ve hayatımıza neşe katan dünya tatlısı yeğenim Elif Eylül GÜRBAŞ' a,

Sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunar çok teşekkür ederim...

İSTANBUL, 2013

Burcu Gürbüz

Bu çalışmamı aileme ithaf ediyorum...

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

<b>KISALTMALAR</b> .....	IV
<b>ŞEKİLLER</b> .....	VI
<b>TABLolar</b> .....	VIII
<b>ÖZET</b> .....	X
<b>SUMMARY</b> .....	XI
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1.Midenin yapısı ve Anatomisi.....	1
1.2. Mide Kanseri .....	3
1.3. Mide Kanserinin Moleküler Yönü ve Genetik ve Epigenetik Değişiklikleri ....	4
1.4. Mide Kanserinin Etiyopatogenezi .....	5
1.4.1. Helikobakter pilori.....	5
1.4.2. Oksidatif Stres.....	7
1.4.3. Diyet.....	8
1.4.4. Radyasyon.....	8
1.4.5. Alkol Kullanımı .....	8
1.4.6. Sigara Kullanımı .....	8
1.4.7. Sosyoekonomik Faktörler .....	9
1.4.8. Pernisiyöz Anemi.....	9
1.4.9. Yaş .....	9
1.4.10. Cinsiyet .....	9
1.4.11. Kan Grubu.....	9
1.4.12.Pozitif Aile Hikayesi.....	10
1.5. Ekstrasellüler Matris.....	10

1.6. Matris Metalloproteinazlar (MMP' ler).....	11
1.6.1. Kollajenazlar .....	15
1.6.2. Jelatinazlar.....	16
1.6.3. Stromelizinler.....	16
1.6.4. Matrilizinler .....	16
1.6.5. Membran Tipi Matris Metalloproteinazlar .....	16
1.6.6. Diğer Matris Metalloproteinazlar .....	17
1.7. MMP-8 .....	20
1.8. Matris Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri (TIMP'ler) .....	22
<b>2.AMAÇ</b> .....	<b>23</b>
<b>3.GEREÇLER</b> .....	<b>25</b>
3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler .....	25
3.2. Araştırma İçin Laboratuvarda Kullanılan Cihazlar ve Markaları.....	25
3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Enzim ve Kimyasallar. ....	26
3.4.Primerler .....	26
3.5. Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar .....	27
3.6. DNA Büyüklük Markörleri .....	27
<b>4.YÖNTEMLER</b> .....	<b>28</b>
4.1. Primer Tasarımı .....	28
4.2.Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) .....	29
4.2.1. PZR Optimizasyon Çalışmaları .....	29
4.3. PZR Ürünlerinin Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP).....	30
4.4. Jel Elektroforezi .....	30
4.5. Dizi Analizi .....	30
4.6. MMP-8 Promotör C-799T Polimorfik Bölgesinin Moleküler Analizi.....	31
4.7. İstatistiksel Veri Analizi .....	31
<b>5.SONUÇLAR</b> .....	<b>33</b>
5.1. Örneklerin Tanımı .....	33
5.2. MMP-8 Geni Promotör Bölgesi C-799T Polimorfizm Analizi.....	34
5.2.1. İlgili Gen Bölgesinin PZR İle Çoğaltılması.....	34

5.2.2. PZR Ürünlerinin Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi .....	35
5.2.3. Dizi Analizi.....	37
5.3. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	39
5.3.1. Hardy-Weinberg Analizi.....	39
5.3.2. Polimorfizm ile Hastalığın ilişkisinin Araştırılması .....	40
5.3.2.1. Çapraz tablolar ve ki-kare bağımsızlık testi.....	40
5.3.3. Lojistik regresyon analizi.....	43
5.3.4.Hasta grubunda demografik ve hastalık özelliklerinin genotip ile ilişkisi.	44
5.3.5.Sigaranın Hastalık ile İlişkisinin Araştırılması .....	48
<b>6. TARTIŞMA .....</b>	<b>50</b>
<b>7.KAYNAKLAR .....</b>	<b>54</b>
<b>8.ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>67</b>



## KISALTMALAR

<b>A</b>	: Adenin
<b>Bç</b>	: Baz çifti
<b>bFGF</b>	: Temel fibroblast büyüme faktörü
<b>C</b>	: Sitozin
<b>CDH-1</b>	: Adezyon molekülü
<b>c-erbB2</b>	: Eritroblastosis onkogen B2
<b>c-met</b>	: Sitoplazmik-mezenkimal epitelyum transisyon faktörü
<b>Dk</b>	: Dakika
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tetra asetik asit
<b>ESM</b>	: Ekstrasellüler matris
<b>EtBr</b>	: Etidyum bromid
<b>G</b>	: Guanin
<b>HG</b>	: Histolojik evre
<b>HGF/SF</b>	: Hepatosit büyüme faktörü/yayılma faktörü
<b>hMLH1</b>	: İnsan mutl homologu 1
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>kDa</b>	: Kilo dalton
<b>KGF</b>	: Keratinosit faktörü
<b>K-sam</b>	: Fibroblast büyüme faktörü reseptörü
<b>MA</b>	: Moleküler ağırlık
<b>MALT</b>	: Mukoza ilişkili lenfoid doku
<b>mg</b>	: Mili gram
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	: Magnezyum klorür
<b>ml</b>	: Mili litre
<b>mM</b>	: Mili molar

<b>MMP</b>	: Matris metalloproteinaz
<b>MSI</b>	: Mikrosatellit instabilite
<b>MT-MMP</b>	: Membran tip matris metalloproteinaz
<b>PAI-1</b>	: Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
<b>PDGF</b>	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
<b>PGE2</b>	: Prostaglandin E2
<b>PS2</b>	: Trefoil faktör 1 protein
<b>PZR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>RAR B2</b>	: Retinoik asit reseptör B2
<b>RFLP</b>	: Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
<b>RUNX3</b>	: Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 3
<b>Sn</b>	: Saniye
<b>SNP</b>	: Tek nükleotit polimorfizmi
<b>T</b>	: Timin
<b>TBE</b>	: Tris-Borik Asit-Edta
<b>TGF-b</b>	: Transforme edici büyüme faktörü-b
<b>TIMP</b>	:Metalloproteinaz doku inhibitörü
<b>TNF-a</b>	: Tümör nekroz faktörü-a
<b>U</b>	: Ünite
<b>Upa</b>	: Ürokinaz tip plazminojen aktivatörü
<b>µl</b>	: Mikro litre
<b>V</b>	: Volt
<b>V.b.</b>	: Ve benzeri
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

## ŞEKİLLER

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1.1.</b> Midenin anatomisi.....	1
<b>Şekil 1.2.</b> Midenin histolojik Yapısı.....	2
<b>Şekil 1.3.</b> <i>H.pilori</i> 'nin morfolojik görünümü .....	6
<b>Şekil 1.4.</b> <i>H.pilori</i> enfeksiyonunda gastrik patoloji gelişimi ve etkili faktörlerin şematik görünümü .....	7
<b>Şekil 1.5.</b> MMP'lerin Yapısı .....	12
<b>Şekil 1.6.</b> MMP'ler için hücre yüzeyi ile ilişkili aktivasyon kaskadı.....	13
<b>Şekil 1.7.</b> MMP'lerin transkripsiyon regülasyonu .....	15
<b>Şekil 1.8.</b> Kanser gelişiminde MMP'lerin işlevleri.....	18
<b>Şekil 1.9.</b> İnsan MMP8 geninin promotör ve genomik yapısı.....	20
<b>Şekil 1.10.</b> Yabancıl tip ve mutant MMP8 fonksiyonel etkileri.....	21
<b>Şekil 4.1.</b> PZR ile çoğaltılacak hedef bölgenin belirlenmesi.....	28
<b>Şekil 5.1.</b> MMP-8 C-799T polimorfik promotör bölgesinin PZR ile amplifikasyon sonuçlarının %2' lik agaroz jelde görünümü .....	35
<b>Şekil 5.2.</b> MMP-8 C-799T polimorfik promotör bölgesinin PZR ile amplifikasyon sonuçlarının %2' lik agaroz jelde görünümü .....	35
<b>Şekil 5.3.</b> Polimorfik promotör bölgesi amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının % 3' lük agaroz jelde görünümü.....	36
<b>Şekil 5.4.</b> Polimorfik promotör bölgesi amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının % 3' lük agaroz jelde görünümü .....	36
<b>Şekil 5.5.</b> Kontrol grubuna ait amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının % 3' lük agaroz jelde görünümü .....	37
<b>Şekil 5.6.</b> Dizi analizine gönderilecek PZR örneklerinin %2' lik agaroz jelde Görüntüsü .....	37

<b>Şekil 5.7.</b> MMP-8 C-799T promotör bölgesi CC homozigot kromotogram görüntüsü.....	38
<b>Şekil 5.8.</b> MMP-8 C-799T promotör bölgesi TT homozigot kromotogram görüntüsü.....	38
<b>Şekil 5.9.</b> Dizi analizine gönderilecek kontrol grubuna ait PZR örneğinin % 2' lik agaroz jelde görüntüsü.....	38
<b>Şekil 5.10.</b> MMP-8 C-799T promotör bölgesi CC homozigot kromotogram görüntüsü.....	39
<b>Şekil 5.11.</b> Hasta grubunun normal doku genotipleri, tümörlü doku genotipleri ve kontrol grubu genotiplerinin dağılımı .....	43

## TABLolar

### Sayfa No.

<b>Tablo 1.1.</b> İnsanlarda matrix metalloproteinaz ailesinin üyeleri .....	19
<b>Tablo 1.2.</b> MMP -8 polimorfizm bölgeleri ve SNP numaraları .....	21
<b>Tablo 1.3.</b> MMP-8 C-799T polimorfik bölgesini oluşturup çoğaltmak için kullanılan primerler .....	26
<b>Tablo 4.1.</b> BglII polimorfik olan bölgenin çoğaltılması için belirlenmiş PZR döngüsü ve sıcaklık zaman değerler .....	29
<b>Tablo 4.2.</b> BglII polimorfik bölgenin amplifikasyonu için optimize edilmiş olan PZR koşulları ve miktarları .....	29
<b>Tablo 4.3.</b> BglII için reaksiyon miktar ve koşulları.....	30
<b>Tablo 4.4.</b> MMP-8 RFLP reaksiyon miktarları ve koşulları .....	30
<b>Tablo 4.5.</b> PZR-RFLP sonucu MMP-8 için beklenen DNA parça uzunlukları.....	30
<b>Tablo 4.6.</b> MMP-8 sekans analizi için dizayn edilen primerler.....	31
<b>Tablo 4.7.</b> MMP-8 promotör polimorfizm bölgesi, kesimi ve beklenen parça uzunlukları.....	31
<b>Tablo 5.1.</b> Mide kanser hastalarının belirli karakteristik özelliklerine göre yüzde oranları.....	33
<b>Tablo 5.2.</b> Kontrol grubu için yaş ortalaması ve standart sapma değerleri ve belli özelliklerinin yüzdesi .....	34
<b>Tablo 5.3.</b> Hasta grubu tümör dokularına ait mmp-8 -799. promotör bölgesi genotip ve allelotip sayısı ve frekansları .....	39
<b>Tablo 5.4.</b> Hasta grubu normal dokulara ait mmp-8 -799. promotör bölgesi genotip ve allelotip sayısı ve frekansları .....	40
<b>Tablo 5.5.</b> Kontrol grubuna ait mmp-8 -799. promotör bölgesi genotip ve allelotip sayısı ve frekansları .....	40

<b>Tablo 5.6.</b> Hasta ve kontrol gruplarının ki-kare ve p değerleri .....	40
<b>Tablo 5.7.</b> Hasta grubunun normal doku genotipleri ile tümörlü doku genotiplerinin dağılımı .....	41
<b>Tablo 5.8.</b> Hasta grubunun normal doku genotipleri ve tümörlü doku genotiplerinin çapraz tablosu ve ki-kare analizi.....	41
<b>Tablo 5.9.</b> Demografik zellikler .....	42
<b>Tablo 5.10.</b> Hasta grubunun normal doku genotipleri ile kontrol grubu genotiplerinin karşılaştırılması .....	42
<b>Tablo 5.11.</b> Hasta grubu normal doku genotipleri ile lojistik regresyon analizi .....	43
<b>Tablo 5.12.</b> Hasta grubunda normal dokuların demografik ve hastalık özelliklerinin genotip ile ilişkisi.....	44
<b>Tablo 5.13.</b> Hasta grubunda tümör dokularının demografik ve hastalık özelliklerinin genotip ile ilişkisi .....	46
<b>Tablo 5.14.</b> Hasta ve kontrol gruplarında sigara içmeyenlerde genotip dağılımları .....	48
<b>Tablo 5.15.</b> Hasta ve kontrol gruplarında sigara içenlerde genotip Dağılımları .....	49

## GENEL BİLGİLER

Adı ve soyadı : Burcu Gürbüz  
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 MATRİS METALLOPROTEİNAZ-8 GENİNDE C-799T POLİMORFİZMİNİN ANALİZİ

Mide kanseri, kansere bağlı ölüm sebepleri arasında ikinci sırada gelmektedir. En sık Çin, Japonya ve Güney Amerika bölgelerinde görülmekte olup hastalığın etiolojisinde *H.pilori* enfeksiyonu, beslenme, çevresel faktörler, sigara ve aşırı alkol kullanımı sorumlu tutulmaktadır. Tümör dokusunun büyümesi ve yayılımını önlemek için bariyer olarak görev yapan ekstrasellüler matrisin parçalanmasından ise MMP'ler sorumlu tutulmaktadır. MMP-8, bu geniş enzim ailesinin önemli bir üyesidir. Akciğer, mesane ve karaciğer gibi kanser olgularında MMP-8 ile ilişkili olarak yapılan bazı polimorfizm çalışmaları bulunmaktadır. Bu çalışmada, MMP-8 geni C-799T promotör bölgesi polimorfizmin mide kanseri hastalarının tümörlü ve normal dokularında PZR-RFLP moleküler analizi gerçekleştirilmiştir. Hasta grubunun kendi içinde ve kontrol grubu ile karşılaştırmaları yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda ise MMP-8 geni C-799T polimorfizminin mide kanseri ile anlamlı bir ilişki kurulamamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** MMP-8, mide kanseri, metalloproteinaz, polimorfizm

## GENERAL INFORMATION

Name and Surname : Burcu GÜRBÜZ  
Department : Moleküler Biyoloji ve Genetik  
Program : Moleküler Biyoloji ve Genetik  
Supervisor : Doç. Dr. Meliha Burcu IRMAK YAZICIOĞLU  
Degree Awarded and Date : Master of Science – September 2013

## SUMMARY

### MATRIX METALLOPROTEİNASE-8 GENE C-799T POLYMORPHISM ANALYSIS IN GASTRIC CANCERS

Gastric cancer is the second cause of death due to cancer. It is most commonly seen in China, Japan and South America and *H.pylori* infection, nutrition, environmental factor, smoking, and alcohol consumption are the etiological factors. MMP's are responsible for the degradation of the extracellular matrix, which acts as a barrier to prevent the growth and spread of tumor tissue. MMP-8 is an important member of this large enzyme family. Several polymorphism studies related to MMP-8 were performed in cancer cases including lung, bladder and liver. In this study the molecular analysis of MMP-8 gene promoter C-799T polymorphism was performed in tumor and normal tissues of gastric cancer patients by PCR-RFLP. The comparisons were done within the patient group and also with the control group.

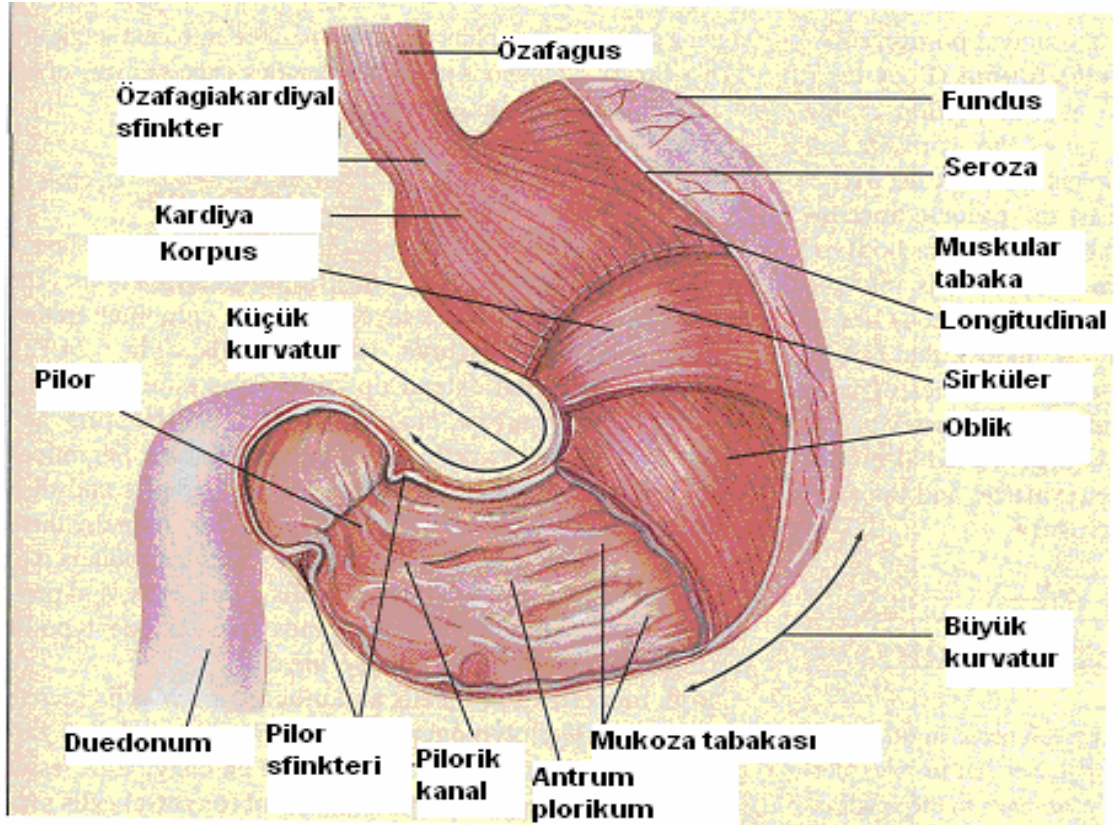
**Key Words:** MMP-8, gastric cancer, matrix metalloproteinase, polymorphism



# 1.GİRİŞ

## 1.1. Midenin Yapısı ve Anatomisi

Mide; özofagus ile duodenum arasında yer almaktadır. Kardiya, fundus, korpus, antrum ve pilor olmak üzere beş kısımda incelenir (Şekil 1.1). Kardiya; özofagus ile midenin birleştiği yerdir. Fundus; kardiyanın solu ve üst kısmında kalan midenin en üst kısmıdır. Korpus; fundus ile incisura angularisden (midenin 1/3 alt ve orta kısmının birleştiği yer) geçen yatay hat arasındaki bölgedir. Bu yatay hat ile pilor arasında kalan bölüm ise antrumdur. Mideden duodenuma geçiş bölgesi ise pilordur. Etrafındaki organlarla komşuluğu açısından klinik olarak önem taşıyan kan damarları açısından oldukça zengin bir organdır (Rosia, 2004).

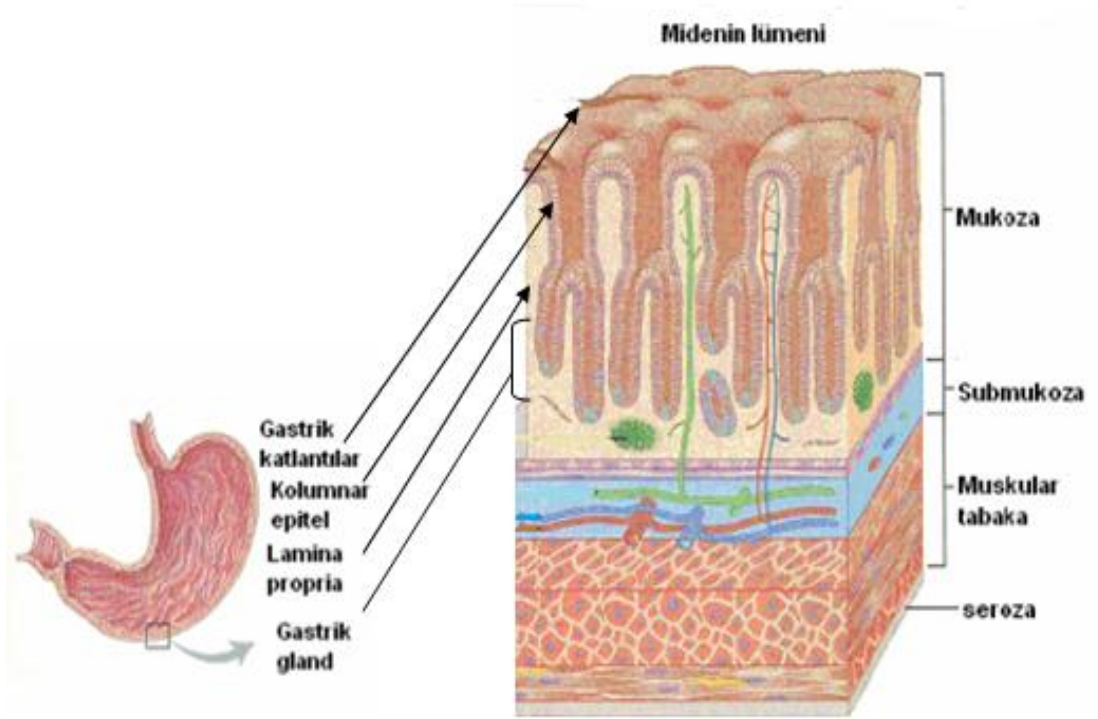


Şekil 1.1. Midenin anatomisi (Turhan, 2008: 16)

Mide duvarı ise içten dışa doğru tunika mukoza, tunika submukoza, tunika muskularis ve tunika seroza olmak üzere dört tabakadan oluşmaktadır (Junguera ve diğ., 1993) (Şekil1.2).

Tunika mukoza; yüzey epiteli, lamina propriya ve muskularis mukoza olmak üzere üç farklı tabaka içerir (Carlos ve Carnerio, 2006). Mide mukoza hücrelerini; esas hücreler (% 44), mukus hücreleri (% 40), pariyetal hücreler (% 13) ve endokrin hücreler (% 3) oluşturmaktadır. Submukoza gevsek bağ dokusu elemanları, elastik lifler, geniş bir damar, sinir ve lenfatik ağdan oluşmaktadır. Anastomoz açısından en güçlü tabakadır (Şahin, 2009: 6).

Muskularis eksterna; farklı plaklara yerleşmiş olan düz kasın üç tabakasını içermektedir. Seroza ise mide duvarının en dışındaki bağ dokusunun bir tabakasıdır (Carlos ve Carneiro, 2006).



Şekil.1.2. Midenin Histolojik Yapısı (Turhan, 2008: 17' den adapte edilmiştir).

## 1.2.Mide Kanseri

İnsanlardaki en agresif tümörler arasında mide kanseri yer almaktadır ve teşhisi erken evrede yapıldığı zaman izlenen 5 yıllık sağ kalım oranı % 90-100 iken, ileri evre tümörlerde ise bu oran % 15-25' lere kadar gerilediği görülmüştür. Mide kanseri, dünyada erkeklerde 2. kadınlarda ise 4. en sık rastlanan kanser tipidir. Türkiye'de ise bütün kanserler içerisinde erkeklerde ve kadınlarda 2. en sık görülen kanserdir (Özer, 2008: 1).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre; Dünyada en sık % 12,3 oranında akciğer kanseri, % 10,4 oranında meme kanseri %9,4 oranında kolorektal kanserler yer alırken kansere bağlı olarak ölüm sebepleri arasında akciğer kanseri % 17,8, mide kanseri % 10,4 ve karaciğer kanseri % 8,8 olmak üzere ilk üç sırayı bu kanserler oluşturmaktadır (Stewart ve Kleihues, 2003).

Dünya genelinde bir çok ülkede vaka oranı düşmesine karşın gelişmekte olan ülkelerde bu oranın artışı görülmektedir (Kelley ve Duggan, 2003). Aynı zamanda mide kanseri 40 yaşından önce ender görülen bir hastalık olup insidansı yaşla birlikte artmakta ve 60' lı yaşlarda en yüksek seviyeye ulaşmaktadır (Özer, 2008: 41). Erkeklerde kadınlara oranla daha çok görülmekte ve erkek/kadın oranı sık görülen yerlerde 2:1, düşük olduğu bölgelerde 3:2' dir (Davis, 1993).

Lauren mide adenokarsinomlarını histolojik açıdan intestinal tip ve diffüz tip gastrik kanser olmak üzere ikiye ayırmıştır (Lauren, 1965). intestinal tip mide kanseri genel olarak erkeklerde ve yaşlılarda daha sık görülmektedir. İntestinal tip mide kanseri etiyojisinde prekanseröz lezyonlar (intestinal metaplazi, atrofik gastrit) ve çevresel faktörlerin (beslenme şekli vb.) rol oynadığı görülmüştür. Genç yaşlarda ve ailevi eğilimi söz konusu olan bu tip kadınlarda daha çok görülmektedir. Bazen diffüz tip, mukozayı düzleştirip mide duvarının kalınlaşmasına neden olmaktadır (Linitis plastica).

Mukus sekresyonu sıklıkla hücreleri genişleterek çekirdeği perifere doğru iter ve böylece taşlı yüzük görünümü şeklini alır (Lauren, 1965).

### 1.3. Mide Kanserinin Moleküler Yönü ve Genetik ve Epigenetik Değişiklikleri

Mide kanserinden, genetik ve epigenetik değişiklikler arasında telomeraz aktivasyonunun yanı sıra onkogenler, tümör supresor genler, hücre siklusu düzenleyicileri, hücre adezyon molekülleri, DNA tamir genleri ve genetik instabilitedeki değişiklikler sorumlu tutulmaktadır (Tahara, 2005). DNA metilasyonu ile meydana gelen mide kanserinin iki farklı genetik yolu p16, hMLH1, Cadherin-1, RAR B2, PS2 ve RUNX3 gibi değişik genlerin inaktivasyonu ile ilgilidir. İntestinal tip daha çok p16 ve hMLH1 promotörlerinin hipermetilasyonu ilişkili iken , diffüz tip mide kanserinde CDH-1 ve RAR B2 promotörlerinin hipermetilasyonu ile uygunluğu görülmüştür. Promotör metilasyonu tarafından RUNX3 kaybı ve PS2 ekspresyon kaybı ise her iki tip mide kanserinde yaygındır (Tahara, 2005, Tahara ve diğ., 1999).

Mide kanserinde sıklıkla c-met, K-sam ve c-erbB2 yi kapsayan birkaç protoonkogen aktive olmuştur. Hepatosit büyüme faktörü/yayılma faktörü (HGF/SF) için bir reseptörü şifreleyen c-met geninin amplifikasyonu mide kanserinin % 19 intestinal tipinde ve % 39'u da diffüz tipinde görülmüştür. Tümör evresi, lenf nodu metastazı ve tümör invazyonunun derinliği ile c-met transkriptinin ekspresyonu iyi korelasyon göstermektedir. K-sam geninin dört transkripsiyonel varyantı bulunmakta ve Tip II transkript sadece karsinoma hücrelerinde eksprese edilmektedir ve KGF için bir reseptörü şifrelemektedir. K-sam daha çok ileri evre mide kanserinin diffüz yada skirroz tipinin % 33' ünde amplifiye olmaktadır. c-erbB2 ise K-sam'a zıt olarak % 20 intestinal tip mide kanserinde amplifiye olur ancak diffüz tip kanserde amplifiye olmaz. Gen amplifikasyonu ile ilişkili olan c-erbB2' nin aşırı ekspresyonu da kötü prognozu ve karaciğer metastazını gösterir (Tahara, 2005; Tahara ve diğ., 1999).

Tümör baskılayıcıları olarak hücre adezyon molekülleri de rol oynayabilir. E-Cadherin genindeki mutasyonlar diffüz tip mide kanserlerinin % 50'sinde oluşmaktadır. Ekzon 8 ya da ekzon 9'u etkileyen E-Cadherin mutasyonları yayılma

morfolojisini uyarır, hücrel adezyon azalır ve diffüz tip mide kanserlerinin hücrel motilitesi artar (Tahara, 2005).

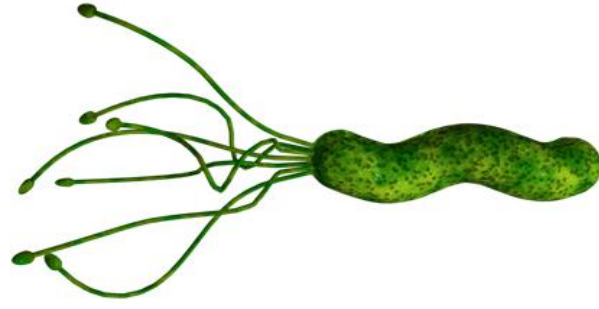
Mikrosatellit instabilite (MSI) ve kromozomal instabiliteyi kapsayan genetik instabilite mide karsinogenezinde gösterilen en önemli faktördür. hMLH1'in epigenetik inaktivasyonundan dolayı olan MSI intestinal tip sporadik mide kanserlerinin % 15- 39'unda bulunmuşken % 70'inin hMLH1 promotorunun hipermetilasyonu ile hMLH1'in kaybı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. MSI'lı intestinal tip mide kanserleri 73 yaşından büyük hastalarda ve sıklıkla antrum ploride oluşur iken MSI'lı diffüz tip mide kanserleri çoğunlukla 35 yaş altında ve sıklıkla skirroz tip karsinoma görülmektedir (Tahara, 2005).

#### **1.4. Mide Kanserinin Etiyopatogenezi**

##### **1.4.1. *Helikobakter pilori***

*H. pilori*, gram (-) bir basil olup epidemiyolojik açıdan basil infeksiyonunun fazla olduğu bölgelerde kanser prevalansının da yüksek olduğu gözlenmiştir. *H. pilori*, içerdiği üreaz enzimi sayesinde üreden amonyak üretmektedir. Üretilen bu amonyak midede hücre çoğalmasını uyarmakta ve mutajen bir etki yaratmaktadır. *H. pilori* infeksiyonunda askorbik asit bir antioksidan olup mide de konsantrasyonu düşmektedir. Bu durum ise, mide üzerine mitojen etkili bileşiklerin oluşmasının engellenmesini önlemektedir. *H. pilori* oluşturduğu inflamasyon sonucunda, mide mukozasına gelen nötrofillerin salgıladıkları serbest oksijen radikalleri de mutasyon oluşturabilmektedir. Bu bilgiler *H. pilori* eradikasyonunun, mide kanserinden korunma açısından önemli bir rol aldığını göstermektedir (Yolçun, 2011: 25).

*H. pilori*, 33-40°C ve pH 6,9-8 arasında olduğu hafif alkali bir ortama ihtiyaç duyar, kamçısı kılıflı ve distalinde terminal bulblara sahiptir. Dış yüzünde kalın bir glikokaliks tabaka bulunmakta ve düzgün bir hücre çeperine sahiptir, hareket için vizköz bir ortama ihtiyaç duyar. Üreaz ve katalaz üretebilmektedir. Canlıda spiral şekillidir fakat üremesi için uygun ortam bulamadığında koksoid (küremsi) bir şekil alabilmektedir (Benaissa ve diğ., 1996; Berry ve diğ., 1995) (Şekil 1.3).

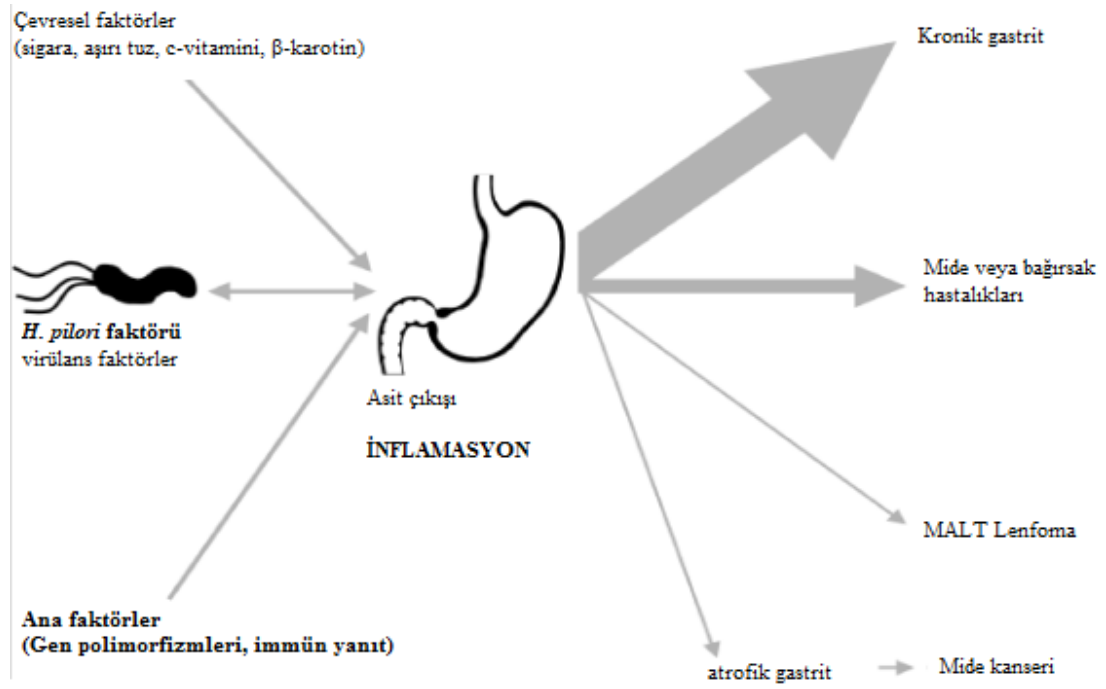


Şekil 1.3. *H. pylori*' nin morfolojik görünümü (Gencer, 2009: 7).

*H. pylori*; kronik gastrit, gastrik ülser, mide adenokarsinomu ve MALT lenfomaya neden olabilen bir bakteri türüdür (Alabalik, 2011: 8) (Şekil 1.4). Dünya Sağlık Örgütü 1994 yılında, *H. pylori*' nin özellikle intestinal tip mide kanseri gelişiminde karsinojen bir bakteri olduğunu kabul etmiştir (Correa, 1992).

*H. pylori* asidofilik bir bakteri olmamasına rağmen midedeki asit sekresyonu, hareketlilik ve kalın musin tabakasının olumsuz koşullarına rağmen mukus içerisinde kolonize olmayı başarmaktadır. Midede kardial ve antral ile duodenumdaki mide hücre metaplazisi görülen alanlarında kolonize olup, lümen ve oksintik kanallarda mukus içerisinde % 80-98 oranında, % 2-20 oranında ise mide hücrelerinin üzerine yerleşirler (Suerbaum ve Michetti, 2002).

Sigara ve beslenme alışkanlıkları gastrointestinal hastalıkların gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Alkol ve kötü beslenme alışkanlıkları direkt olarak mide mukozasında inflamasyona yol açabilmektedir. *H. pylori* ile kronik olarak enfekte mide mukozasına sahip kişilerin alkol, sigara ve nitrozamin gibi cesitli karsinojenlere maruz kalması durumunda *H.pylori*' nin yol açtığı patolojinin neoplastik transformasyona doğru süreci kolaylaştırmaktadır (van Amsterdam ve diğ., 2006) (Şekil 1.4.)



Şekil 1.4. *H. pylori* enfeksiyonunda gastrik patoloji gelişimi ve etkili faktörlerin şematik görünümü (Amsterdam ve diğ., 2006).

#### 1.4.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres olarak ifade edilen reaktif oksijen türlerinin hücrede aşırı derece birikimi akut fizyolojik ve patolojik durumlarda gözlenmektedir. Bunun yanısıra yaşlanma ve kanser gibi pek çok kronik hastalıkta da oksidatif stres önemli rol oynamaktadır (Guyton ve diğ., 1996; Whisler ve diğ., 1995; Gencer ve diğ., 2013).

Bir oksidant hücre içerisinde kontrol edilemediği durumda farklı molekülleri etkileyebilmekte ve fonksiyonunu bozabilmektedir. Bu farklı moleküller ise DNA, lipit, karbohidrat ve proteinlerdir. Biyolojik bir oksidasyon olayını (oksidatif hasarı) önleyen bileşikler ise antioksidanlar olarak isimlendirilir (Prior ve Cao, 1999).

Vücut, oksidantlar ve antioksidanlar arasında bir dengeye sahip olmakta ve bu dengenin bir şekilde bozulmasıyla da oksidatif stresi meydana getirmektedir.

Özellikle DNA'ya hasar verecek olan reaktif oksijen türleri vücutta strese sebep olup mutasyonlar oluşturmakta ve sonuçta kanser oluşmasına ve ilerlemesine neden olmaktadır (Kim ve diğ., 2010).

### **1.4.3. Diyet**

Beslenme ile mide kanseri arasında direkt ve önemli bir ilişki kurulmuştur. Aşırı derecede tuzlu beslenme ile mide kanserlerinin ilişkili olduğu gösterilmiştir (Oiwa ve diğ., 1995). Bununla beraber mide kanseri riskini karbonhidrat, turşular, tuzlanmış et ve balık artırırken, diğer yandan süt, taze sebzeler, vitamin C tüketiminin fazlalığının ise riski azalttığı gösterilmiştir (Qiu ve diğ., 2004; Graham ve diğ., 1994).

Mide kanserine sebep olduğu düşünülen diğer iki etken madde ise nitrit ve nitratlardır. Nitritler gıdalar ile alınmakla birlikte genellikle nitratlardan oluşmaktadır. Nitratlar ise kurutulmuş tahıllarda ve gıda koruyucularında bulunmaktadır (Keighley ve diğ., 1984). Mide kanseri riskini azalttığı gösterilen diğer bir etken de sosyal gıdalar ile beslenmedir (Wu ve diğ., 2000).

### **1.4.4. Radyasyon**

Bazı araştırmalar gastrik kanser riskini iyonize radyasyonun iki ile dört kat arttırdığını ifade etmişlerdir (Kelley ve Duggan, 2003). Radyasyon midede doz bağımlı karsinojenik etki göstermektedir. Malign lenfoma sonucunda kemoterapi ve radyasyon tedavisi uygulanan gençlerde, tedavi sonrası gelişen mide karsinomu vakaları bildirilmiştir (Fenoglio-Preiser ve diğ., 1999).

### **1.4.5. Alkol Kullanımı**

Alkol tüketimi mide kanseri için bir risk faktörü olarak görülmektedir (McCull ve Kel, 2006). Alkol içenlerde, içmeyenlere göre mide kanserine yakalanma riskinin iki kat fazla olduğu belirtilmiştir (Kelley ve Duggan, 2003). Mide kanseri ile alkol kullanımının ilişkili olduğunu ortaya koyanlar olduğu gibi (Yamaji ve diğ., 2009) bu ikisi arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını belirten çalışmaların olduğunu da belirtmek gerekmektedir (Shimazu ve diğ., 2008).

### **1.4.6. Sigara Kullanımı**

Sigara içimi ile mide kanseri arasındaki ilişki çelişkilidir. Bazı araştırmacılar sigaranın doza bağlı olduğunu ve mide kanserini arttırdığını, bazı araştırmacılar ise



dozla ilgisi olmadığını belirtmektedir. Aynı zamanda bir kısım araştırmacılar da sigara ile mide kanseri arasında ilişki olmadığını belirtmektedirler (şahin, 2009: 18).

#### **1.4.7. Sosyoekonomik Faktörler**

Mide kanseri gelişme riski, düşük sosyoekonomik ülkelerde gelişmiş ülkelere oranla daha fazladır (Kelley ve Duggan, 2003; Tokieda ve diğ., 1999). Bu sonuç intestinal tip için daha çok geçerlidir. Amerika Birleşik Devletlerinde mide kanser riskinin siyahlarda beyazlara göre iki misli yüksek olmasının düşük sosyoekonomik duruma bağılı olması ile ilişkilendirilmiştir (Tokieda ve diğ., 1999).

#### **1.4.8. Pernisiyöz Anemi**

Gastrik mukozayı etkileyen ağır bir kansızlık ve sinir sistemi bozukluğuna yol açan bir hastalıktır (Kelley ve Duggan, 2003). Bazı çalışmalarda mide karsinomu olan vakaların % 2'sinde pernisiyöz anemi görülmüştür. Yapılan çalışmalarda intestinal tipte kanser gelişme riskinin üç ile beş kat arttığı gösterilmiştir. Pernisiyöz anemide kronik otoimmün atrofik gastrit görülür, bu ise mide karsinomu için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Bu grupta mide kanseri prevalansı % 1-3'tür (Türkdoğan ve diğ., 2003).

#### **1.4.9. Yaş**

Mide kanseri daha çok ileri yaş grubunda görülmekte olup Genellikle 60 yaşın üzerinde daha sık görülmektedir (Sanchez ve diğ., 1998).

#### **1.4.10. Cinsiyet**

Mide kanserinde kadın ve erkek arasındaki farklılık oldukça belirgindir. Kadınlara oranla erkeklerde iki kat daha fazla görülmektedir (Chandanos ve Lagergren, 2008).

#### **1.4.11. Kan Grubu**

A kan grubu bireylerinde O kan grubuna oranla mide kanserine daha sık rastlandığı bilinmektedir (Hyung ve diğ., 2002). A kan grubu özellikle diffüz tip kanseri ile ilişkilendirilmektedir (Christan ve diğ., 1999).

#### **1.4.12.Pozitif Aile Hikayesi**

Zanghieri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar sonucunda ailesinde mide kanserine yakalanan kişilerin üç kat daha fazla risk taşıdığı söylenmiştir. (Zanghieri ve diğ., 1990).

#### **1.5. Ekstrasellüler Matris**

Ekstrasellüler matris (ESM); Dokulardaki hücrelerin bir arada tutulmasına destek sağlayan bunun yanı sıra hücre büyümesi ve farklılaşmasını denetleyen pek çok hormon için depo görevi gören ve hücrelerin özel işlevleri gerçekleştirmesi için kendilerini yönlendirecek hücre içi iletişim yolları ile doğrudan ya da dolaylı olarak etkileşmesini sağlayan bir sinyal iletişim merkezidir (Reel, 2006; Alberts ve diğ., 2002). Matris ile hücreler arasındaki bu etkileşmeler organizmanın normal gelişimi ve fonksiyonu için önemli rol oynamaktadır (Massova, 1998).

Hücrenin önemli fonksiyonlarının düzenlenmesinde ESM molekülleri görev almaktadır (Libby, 2000). İntegrin moleküllerinin kardiyomyositler, endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinin yüzeyinde yer alan integrin reseptörlerine bağlanmasını sağlayarak hücrel fonksiyonları değiştiren sinyaller gönderirler. Böylece hücreler, sitozolik sinyal iletim yollarını direkt olarak aktive edebilirler. ESM' ye bağlanma sonucunda sinyal oluşmaz ise hücreler apoptozise uğrar. Bunun yanı sıra, matris çok sayıda büyüme faktörünü bağlayarak hücrelerden gelen sinyalleri tutar ya da hücrelere gönderir. Bu şekilde indirekt sinyalleme yollarını aktive ya da inhibe ederler (Libby, 2000; Lodish, 1999).

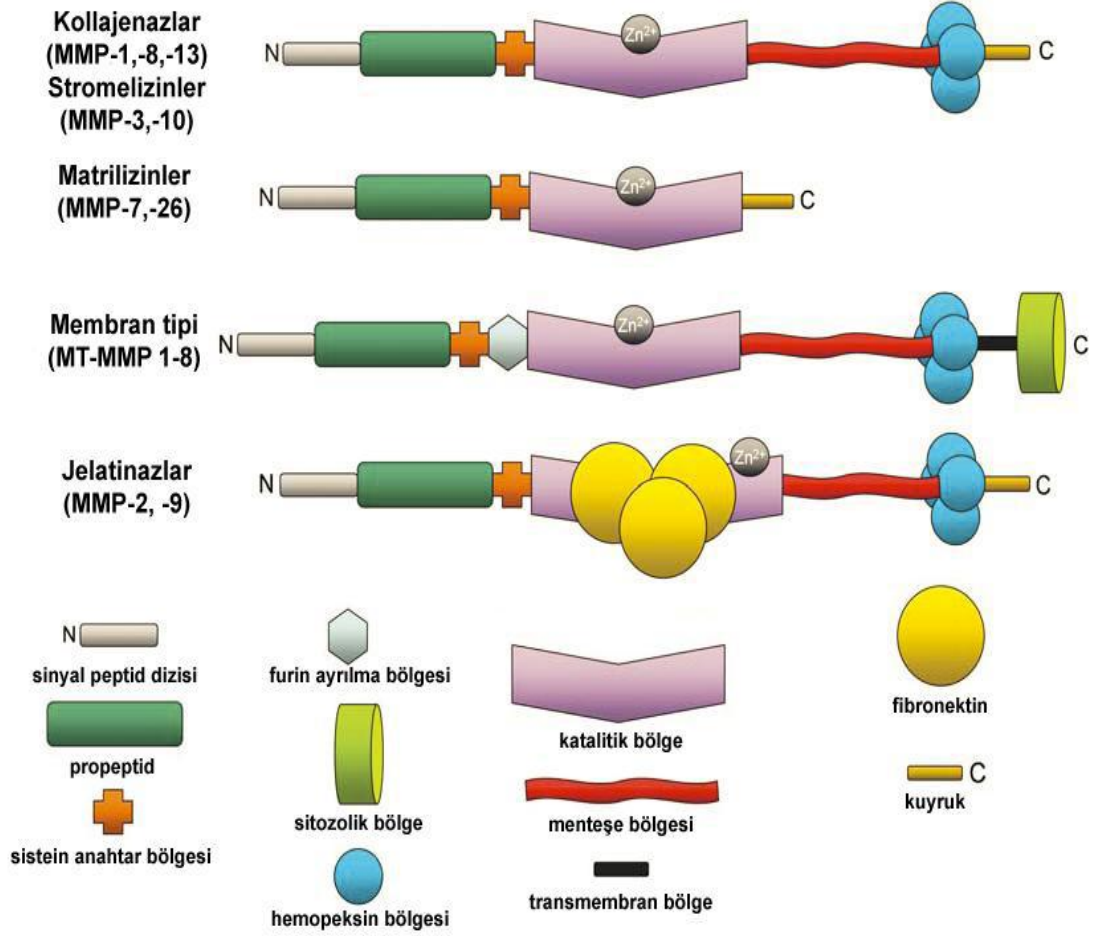
ESM; iki temel makromolekül sınıfından oluşmaktadır. Bu makromoleküller içinde bulunduğu veya kendisine yapıştığı hücreler tarafından üretilir. Bu iki temel molekül: Glikozaminoglikanlar (proteoglikan molekülleri oluşturmak için proteine bağlanan negatif yüklü polisakkarit zincirleri), ve kollojen, elastin, fibronektin ve laminin gibi fibrilli proteinlerdir. ESM aynı zamanda kıkırdak, tendon, bazal lamina kemik ve diş gibi özelleşmiş yapıları da oluşturmaktadır. ESM' nin özelleşmiş ve çok ince bir tabaka şeklini almış yapısına da bazal lamina (bazal zar) adı verilmektedir (Akay, 2007: 87-89).

ESM tümör dokusunun büyümesi ve tümör hücrelerinin yayılımını önlemek için bir bariyer olarak görev yapar ve malign tümörler bu bariyeri aşmak için metalloproteinazları kullanırlar. Matris metalloproteinazlar (MMP) aracılığı ile de sentez, parçalanma ve yeniden yapılanma süreçlerindeki hücre regülasyonu, dönüşümü gibi etkilerini ortaya koyar (Ennis, 1994; Sethi, 2000).

### **1.6. Matris Metalloproteinazlar (MMP' ler)**

Matris metalloproteinazlar, ESM ve bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan aynı zamanda çinko ve kalsiyum bağımlı endopeptidaz enzim ailesidir (Reel, 2006; Amălinei ve diğ., 2010). Hücre dışı proteinazlar ve matriksinler olarak da bilinirler (Corbel, 2000). MMP enzim grubunun yaklaşık 26 üyesi insanlardan amfibilere kadar pek çok organizmada bulunmaktadır (Egebland ve Werb, 2002).

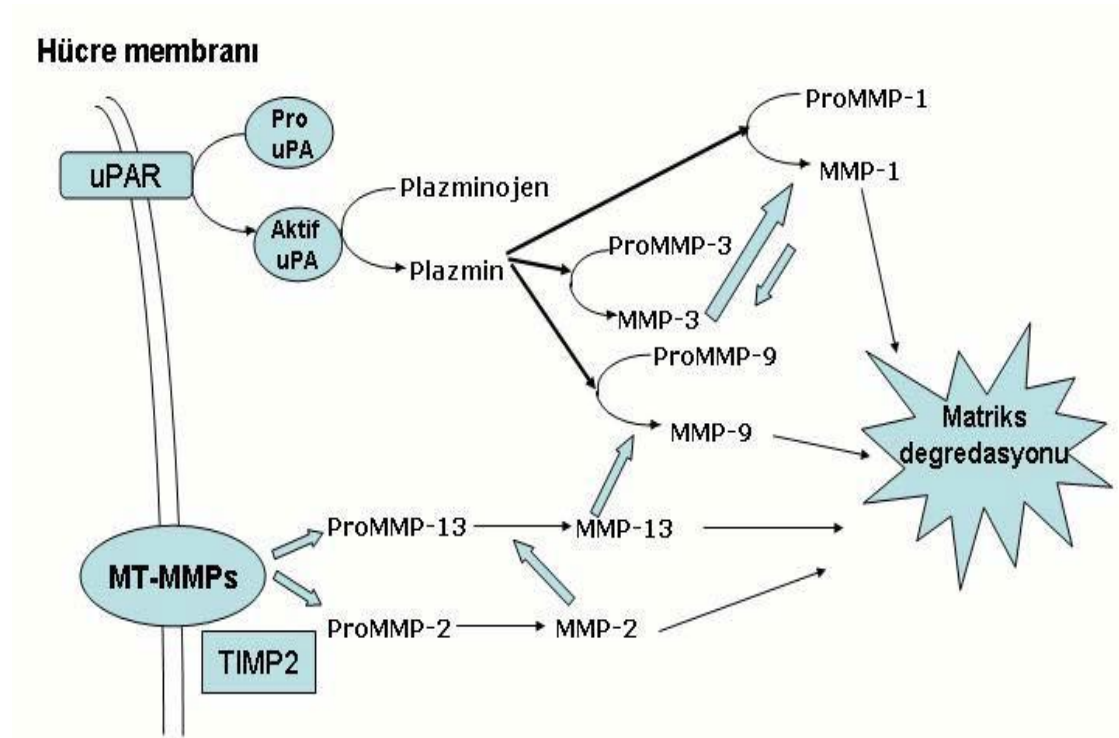
Yapısal olarak tüm MMP'ler predomain, prodomain ve katalitik domain olmaküzere üç bölge içermektedir. Predomain, hücre içinde sentezlenen enzimin membrana transferinde gereklidir (Michael, 2001). Predomain, 80-90 aminoasit içeren aminoterminal propeptiddir (Sethi ve diğ., 2000). Prodomain, enzimatik aktivitenin latent formda kalmasını sağlamaktadır. Katalitik bölgede bulunan sistein rezidüsü içeren peptid zinciri ile etkileşir. Katalitik bölge ise histidin rezidüleri içeren, bakteriyel metalloproteinazlardan termolizine analog olan ve fonksiyonel stabilizinin korunması için gerekli olan çinko iyonunu içeren kısımdır (Sethi ve diğ., 2000). MMP'lerin çoğunda, karboksi-terminal pozisyonda dördüncü bir bölge daha bulunmaktadır. Bu yapısal bölge vitronektin ve hemopeksinle homoloji göstermekte ve MMP'lerin substrat tanınmasıyla ilişkilidir (Michael, 2001) (Şekil 1.5.)



Şekil 1.5. MMP' lerin Yapısı (Chow ve diğ., 2007).

Potansiyel yıkıcı etkilerinden dolayı MMP'lerin tümü enzimatik olarak inaktif ya da zimojen (proenzim) formlarında sentezlenirler (Woessner, 1998). MMP'lerin N-terminal bölgesinde, enzimin endoplazmik retikulum içine salgılanmasını bunun yanı sıra hücre dışına aktarılmasını sağlayan bir sinyal peptid dizisi bulunur. Bu dizi enzim salgılandıktan sonra ortamdaki kaybolmaktadır (Kuzuya ve Iguchi, 2003; Vihinen ve Kahari, 2002). Bu diziyeye bitişik olan hidrofobik propeptid bölgesi ise enzimin inaktif formda kalmasından sorumlu olup enzim aktivasyonunun ardından kaybolur. Propeptid bölgesine komşu olan katalitik bölge, çinko bağlayan bölgeyi içerir. Katalitik bölge MMP'lerin stabilitesini ve enzimatik aktivitesini korumak için katalitik çinko atomuna ek olarak yapısal çinko atomu ve 1-3 adet kalsiyum atomu içermektedir (Kuzuya ve Iguchi, 2003; Nagase ve diğ., 2006; Visse ve Nagase, 2003)

MMP'lerin tümü inaktif zimojen form olan preproenzim olarak sentezlendikten sonra çoğu yine bu formda salınırlar. İnaktif zimojenler hücre içinde, hücre yüzeyinde ya da ekstrasellüler aralıkta aktive olmaktadır. Hücre yüzeyinde aktivasyon MT-MMP'ler aracılığıyla, ekstrasellüler aralıkta aktivasyon ise diğer proteazların etkisiyle aktivasyon kaskadı ile ya da önceden aktivasyona uğramış MMP'lerin diğerlerini aktivelemesiyle meydana gelebilmektedir (Jones ve diğ., 2003) (Şekil 1.6.).



Şekil 1.6. MMP'ler için hücre yüzeyi ile ilişkili aktivasyon kaskadı (Beaudeau, 2004).

MMP'ler, lökositler, keratinositler, fibroblastlar, makrofajlar, kondrositler, düz kas hücreleri gibi epitelyal ve mezenkimal kökenli hücreler tarafından sentezlenmektedirler. Bir çok MMP embriyogenez aşamasında yaygın olarak ifade edilmektedir. Yetişkinlerde ise plasentada, endometriyumda, meme bezlerinin involusyonu esnasında ve inflamasyonda hızla ifade edilmektedirler. MMP'ler, fetal doku gelişimi, blastokist implantasyonu, organ morfogenezi, uterus ovulasyonu, kemik rezorbsiyonu, yara iyileşmesi ve programlanmış hücre ölümü gibi pek çok fizyolojik olayda rol almalarının yanında periodental hastalıklar, otoimmün deri hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, nefrit, nörolojik hastalıklar, kan-beyin.

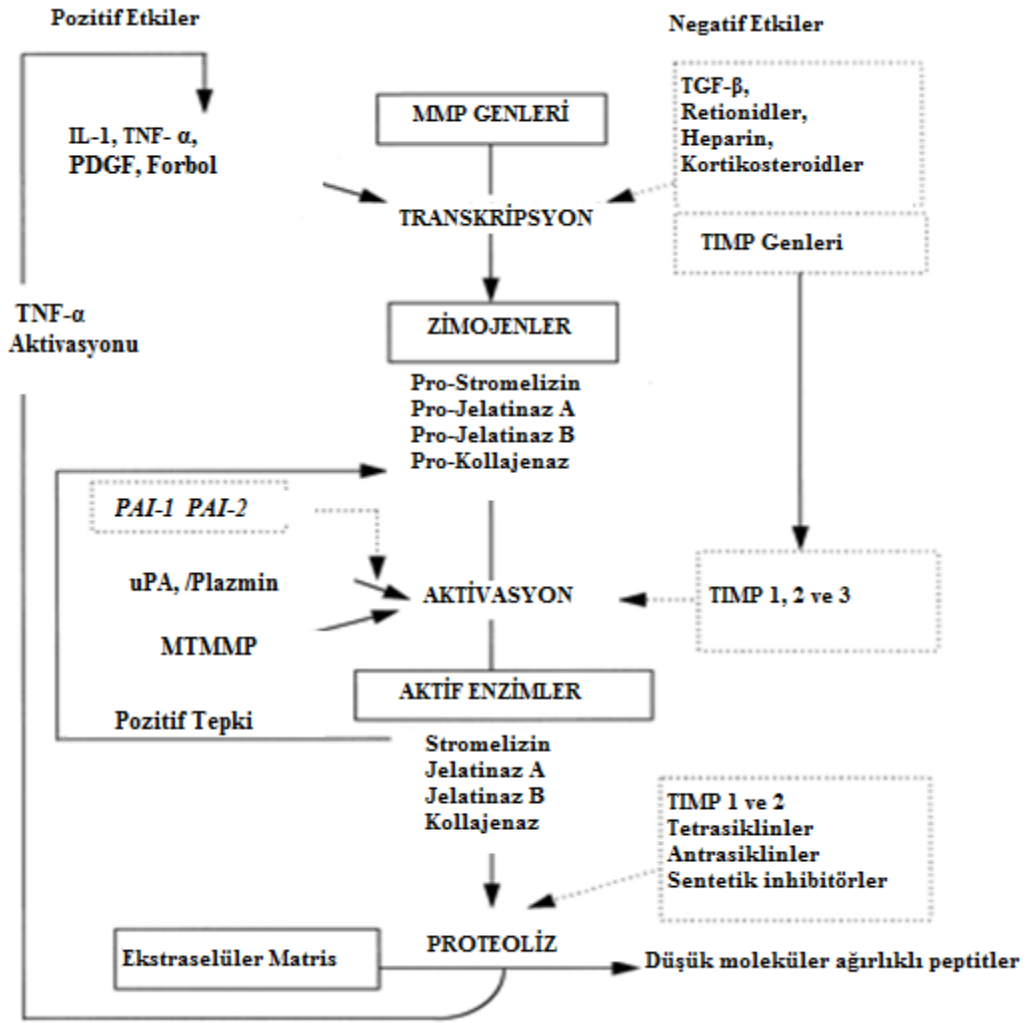
bariyerinin yıkılması, osteoartrit, kanser gibi patolojik olaylarda da önemli rol oynamaktadırlar (Verspaget-Hein, 1998).

MMP'lerin proteolitik aktiviteleri üç basamakta düzenlenir. Bunlar transkripsiyon, pro-enzimin aktivasyonu ve enzim aktivitesinin inhibisyonudur (Dollery ve diğ., 1995) (Sekil 1.7). Transkripsiyonel düzenleme aşamasında MMP gen ekspresyonu TNF-a, IL-1 gibi inflamatuvar sitokinlerle, PDGF ve EGF gibi birçok büyüme faktörü ve hormonlar ile stimüle edilir (Dollery ve diğ., 1995; Nagase, 1997).

TGF-b, heparin, kortikosteroidler, PGE2 ve diğer eikozanoidler ise MMP gen transkripsiyonunu inhibe ederler. MMP transkripsiyonunda etkili olan birçok sitokin ve büyüme faktörünün ateroskleroz ve restenozda önemli mediyatörler olarak görev yaptığı gösterilmiştir (Dollery ve diğ., 1995; Nagase, 1997). Proenzimin aktivasyonu aşamasında düzenlemede ise MMP' ler sentez edildikten sonra inaktif proenzim (zimojen) olarak salınmaktadırlar. Enzimin pro-bölgesindeki sisteyinin sülfidril grubu ile aktif bölgedeki çinko arasındaki etkileşim latentliğin sürdürülmesinden sorumludur. MMP'lerin temel fizyolojik aktivatörü plazmindir. Çeşitli hücrelerde (endotel hücresi, monosit-makrofaj, düz kas hücresi) ifade edilen uPA'nın aktif formunun plazminojeni plazmine dönüştürdüğü ve oluşan plazminin pro-MMP'leri aktive ettiği kabul edilmektedir (Beaudeau ve diğ., 2004; Dollery ve diğ., 1995; Rosano ve diğ., 2002).

uPA ekspresyonunun steroid hormonlar, hücrel onkojenler, sitokin ve büyüme faktörleri aracılığıyla düzenlendiği gösterilmiştir (McCawley ve diğ., 2000). PAI-1, uPA üzerinde inhibitör etkilidir ve MMP'lerin plazmin aracılı aktivasyon kaskadı ile zıt yönde etkilesir (Beaudeau ve diğ., 2004). MMP enzim aktivitesinin inhibisyonu MMP aktivitesinin kontrolünde spesifik doku inhibitörleri olan TIMP'ler anahtar rol oynamaktadırlar. Bundan başka a2-makroglobulin, heparin, tetrasiklinler ve sentetik inhibitörler de aktif MMP inhibitörleri arasında yer alırlar (Dollery ve diğ., 1995).

MMP'lere irreversibl ve kovalent olmayan biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Bu sayede TIMP'ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar (Jacob, 2003; Lambert ve diğ., 2004)



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

Primer yapıları, subselüler lokalizasyonları ve proteolize uğrattıkları ESM substratları temel alınarak MMP'lerin sınıflandırılması yapılmıştır (Tablo 1.1). Bu kapsamda MMP ailesi 6 grupta sınıflandırılmıştır (Bol, 2001: 5).

### 1.6.1. Kollajenazlar

Kollajen yıkımı yapan metalloproteinaz ailesi üyesidirler. İnterstiyel kollajenaz (kollajenaz-1 ya da MMP-1), nötrofil kollajenaz (kollajenaz-2 ya da MMP-8) ve kollajenaz-3 (MMP-13) olmak üzere bu gruba ait üç üye tanımlanmıştır (Leeman ve diğ., 2002). MMP-18 de kollajenazlar grubunda yer almaktadır. Bu enzimlerin temel özelliği, hücreler arası alanda tip I, II, III kollajenleri parçalayabilme yetenekleridir (Visse ve Nagase, 2003).

### **1.6.2. Jelatinazlar**

Jelatinaz A (MMP-2) ve Jelatinaz B (MMP-9) olmak üzere iki alt tipi vardır. Primer substratları jelatinlerdir (Allan ve diğ., 1995). Bu enzimler kollajen, laminin ve jelatine bağlanan katalitik bölgenin içine yerleşmiş ve üç defa tekrarlanmış tip II fibronektin bölgesi içermektedir. Bu bölge jelatinazların, jelatin ve kollajene yüksek ilgi ile bağlanmalarını sağlamakta ve böylece proteolitik etkinliklerini artırmaktadır (Muphy ve diğ., 1994).

### **1.6.3. Stromelizinler**

Stromelizinler, MMP-3, MMP-10 ve MMP-11 üyelerini içermekte ve ESM bileşenlerinin birçoğuna etki edebilmektedir. Kuvvetli proteoglikanazlardır. Stromelizin-1 (MMP-3) ve stromelizin-2 (MMP-10)'nin katalitik aktiviteleri birbirine çok benzer, fakat gen düzenlenmeleri açısından farklılık gösterirler (Wiesen ve Werb, 1996) . Stromelizin-3 (MMP-11) ise yapısı diğerlerine benzediği için bu gruba dahil edilmekle birlikte yapısal ve fonksiyonel özellikler açısından farklılık göstermektedir. Stromelizin-3 daha çok özgül olmayan metalloproteinaz substratı olan  $\beta$ -kazein ve alfa2- makroglobin üzerinde proteolitik aktivite göstermektedir (Murphy ve diğ., 1999).

### **1.6.4. Matrilizinler**

Hemopeksin bölgesinin yokluğu ile karakterize olan matrilizinler, MMP-7 (Matrilizin-1) ve MMP-26 (Matrilizin-2) üyelerini içermektedir. Edometazlar olarak da adlandırılırlar. MMP-7, ESM içeriklerine ek olarak hücre yüzey moleküllerinden pro- $\alpha$ -defensin, fas-ligand, TNF-  $\alpha$  ve E-cadherin üzerine de etkilidir (Visse ve Nagase, 2003). MMP-7, en düşük molekül ağırlıklı metalloproteinazdır. Substrat özgülüğü açısından MMP-3'e benzer fakat aktivitesi açısından daha kuvvetlidir (Li ve diğ., 2006).

### **1.6.5. Membran Tipi Matris Metalloproteinazlar**

Membran tipi matris metalloproteinazlar (MT-MMP) hücre membranına bağlı olarak bulunurlar fakat diğer matris metalloproteinazlar hücre dışı alana proenzim olarak salınırlar. Yapı olarak ise birbirlerine benzerler. Fazla sayıda substratları olup güçlü matris metalloproteinazlardır ve başlıca substratları kollajenler, fibronektin ve proteoglikanlardır. Buna karşın yüksek doku özgülüğü



gösterirler ve buldukları dokular farklıdır. Altı adet MT-MMP bulunmaktadır. Bunların dört tanesi Tip 1 transmembran proteini (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-24), iki tanesi (MMP-17, MMP-25) glikozilfosfatidilinositol bağlı proteindir (Tüzün, 2008).

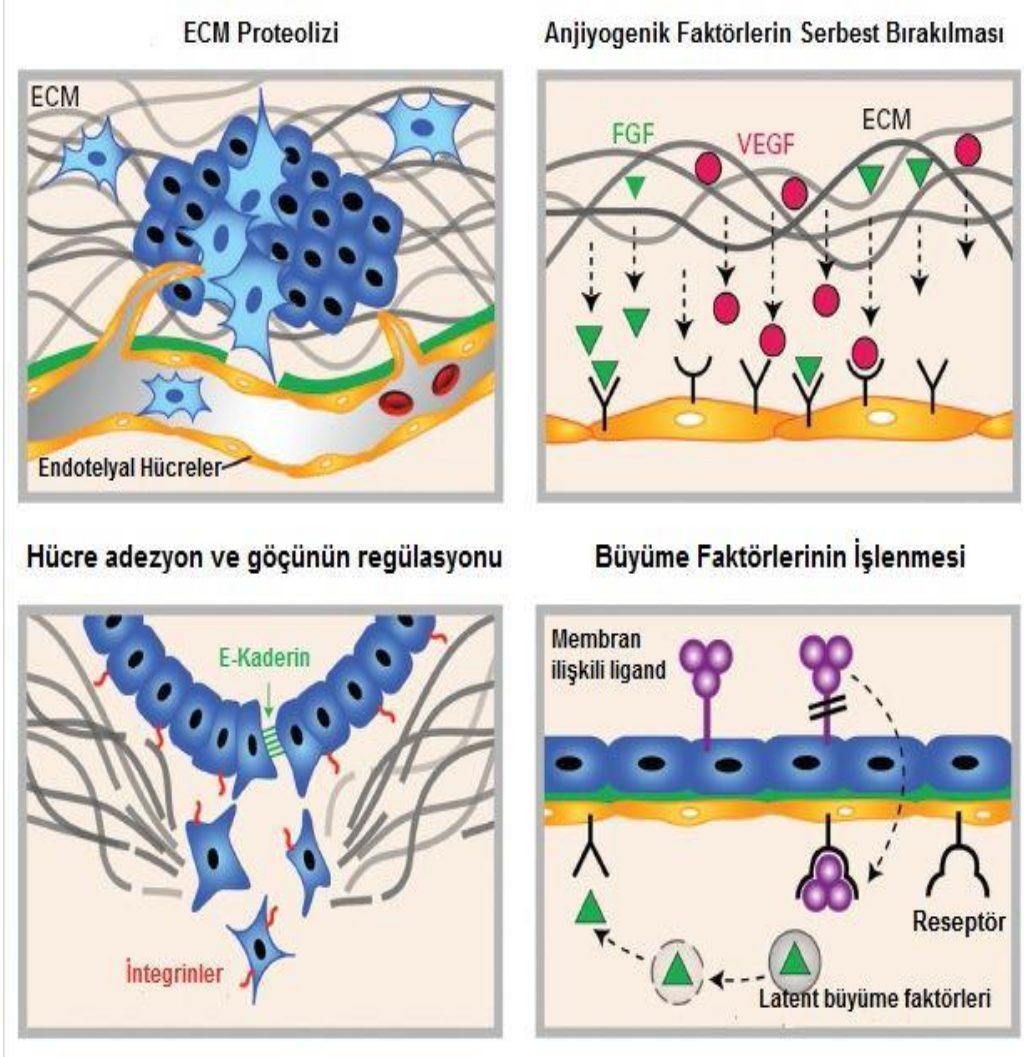
#### **1.6.6. Diğer Matris Metalloproteinazlar**

Bu gruptaki MMP'ler yukarıda sayılan gruplar içinde yer almazlar. MMP-12 (Metalloelastazlar), çoğunlukla makrofajlarda eksprese edilirler ve makrofajların göçünde önemlidirler. MMP-20 (Enamelizin) diş dokusunda bulunur. MMP-19 ve MMP-28 yakın ilişkiindedirler ve çok sayıda dokuda saptanmışlardır. MMP-19 bazı bazal membran proteinlerini hidrolize eder. MMP-28 ise hasar sırasında keratinositlerce ifade edilmektedir. MMP-23 özellikle over, testis ve prostat dokusunda ifade edilmektedir (Tüzün, 2008).

MMP'ler; inflamatuvar hastalıkların dokularının yeniden şekillenmesinde, kanser invazyonu ve metastazı gibi ESM proteinlerinin parçalanmasının sadece normal sürecinde rol almayıp patolojik süreçlerde de rol alırlar. MMP'lerin ifadesi büyük oranda malign tümörlerin regülasyonu ile olmaktadır. Kanser kötü prognozu ve tümör hücrelerinin daha agresif fenotipi ile MMP'lerin aşırı ifadesi arasındaki ilişkiyi gösteren önemli çalışmalar vardır. (Nelson ve diğ., 2000).

MMP'lerin ESM degradasyonundaki rolü tümör büyümesi ve anjiyogenez ile ilişkilendirilmiştir. Bu proteolitik aktivite, kanser hücrelerinin yakınındaki bir kan damarını işgal edip, uzaktaki bir dokuyu, yeni metastatik kaynak için istila etmesi gereklidir (Pećina-Šlaus, 2003; Roy, 2009).

Anjiyogenez, endotelial hücrelerinin çevredeki bağ dokulara göç etmesiyle, yeni kan damarlarının oluşumu sürecidir. MMP'ler bu regülasyonda karışık ve bazen çelişkili rol oynamaktadır. MMP'lerin, ESM' de yerleşmiş anjiyogenik faktörlerden VEGF ve bFGF serbest bırakarak anjiyogeneze katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Roy, 2009) (Şekil 1.8)



Şekil 1.8. Kanser gelişiminde MMP'lerin işlevleri (Roy, 2009)

**Tablo 1.1.** İnsanlarda matris metalloproteinaz ailesinin üyeleri (Hageman ve diğ., 2012; Sethi ve diğ., 2000; Nagase ve Fields, 1996; Evans ve diğ., 1997 adapte edilmiştir).

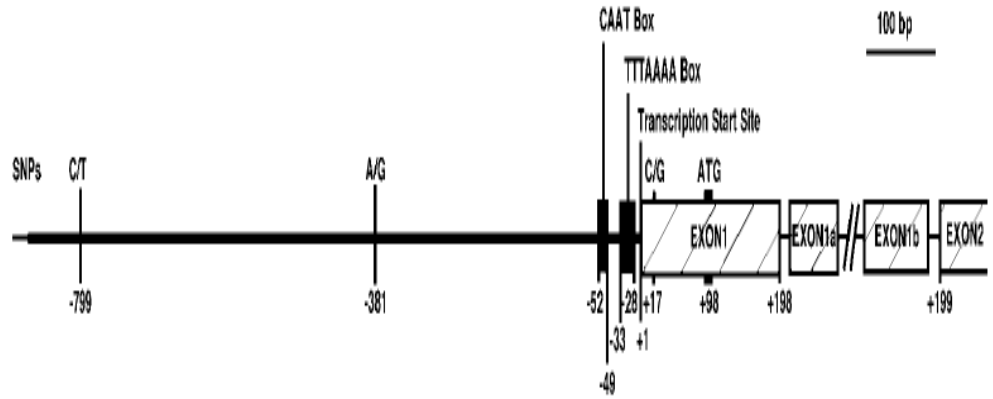
Grup	MMP	MA Latent (kDa)	MA Aktif (kDa)	Substratları
<b>Kollejenazlar</b>				
Kollajenaz-1, İntertisyel kollajenaz	MMP-1	55	43	Kollajen I, II, III,, VII, X, Agrekan, fibronektin
Kollajenaz-2, Nötrofil kollajenaz	MMP-8	75	58	Kollajen I, II, III, E-cadherin, serpin, $\alpha$ 2-M, fibrinojen, laminin
Kollajenaz-3	MMP-13	65	55	Kollajen I, II, III, IV, IX, X, XIV, $\alpha$ 2-M, serpin, fibrin, agrekan, jelatin I
<b>Jelatinazlar</b>				
Jelatinaz A, nötrofil jelatinaz	MMP-2	72	66	Kollajen I, III, IV, V, VII, X, XI, Agrekan, jelatin I
Jelatinaz B	MMP-9	92	84	Kollajen IV, V, VII, X, XI, XIV, $\alpha$ 2-M, jelatin I
<b>Stromelizinler</b>				
Stromelizin-1, transin-1	MMP-3	57	46	Kollajen III, IV, V, VII, IX, X, XI, Agrekan, $\alpha$ 2-M elastin, jelatin I
Stromelizin-2, transin-2	MMP-10	57	46	Kollajen III, IV, V, agrekan, elastin, fibronektin, jelatin I
Stromelizin-3	MMP-11	51	44	IGFBPs, $\alpha$ 2-M, $\alpha$ 1-PI, serpin
<b>Matrizilinler</b>				
Matrizilin-I	MMP-7	28	19	Kollajen I, IV, agrekan, elastin, E-cadherin, fibrinojen, jelatin I
Matrilizin-2	MMP-26			Kollajen IV, fibronektin, jelatin I
<b>Metalloelastazlar</b>				
Metalloelastaz	MMP-12	54	45	Kollajen I, IV, elastin, fibronektin, agrekan, fibronektin, jelatin I
<b>MT-MMP</b>				
MT1-MMP	MMP-14	64	54	Kollajen I, II, III, agrekan, $\alpha$ 2-M, jelatin I, Pro MMP-2, Pro MMP-13
MT2-MMP	MMP-15	72	61	Agrekan, fibronektin, laminin, nidrojen
MT3-MMP	MMP-16	66	55	Kollajen III, fibronektin, $\alpha$ 2-M, jelatin, Pro MMP-2
MT4-MMP	MMP-17		54	Fibrin, fibrinojen, Pro MMP-2
MT5-MMP	MMP-24	63	62	Proteoglikan, Pro MMP-2
<b>Diğerleri</b>				
RASI-1	MMP-19			Kollajen I, IV, agrekan, fibronektin, jelatin I
Epilsin	NNP-28			Kazein

### 1.7. MMP-8

MMP-8, nötrofil kollejenaz ya da kollejenaz-2 olarak da bilinir. MMP enzim ailesinin üyesidir (Wang ve diğ., 2004). 75 kDa büyüklüğünde proenzim olup aktif

formu ise 58 kDa büyüklüğündedir. Tip I, II, III interstisyel kollajeni yıkar ve diğer interstisyel kollajenzdan farklı bir genden devire edilir. Nötrofil kollajenzda, fibrobil kollajenzda bulunmayan altı glikozilasyon sahası vardır ve bu nedenle nötrofil kollajenz artmış glikozilasyondan sorumludur (Gordon ve diğ., 1993). C-799T polimorfizmi MMP-8 geninin promotöründe yer almaktadır. Şekil 1.9.' da insan MMP-8 geninin promotör ve bitişik dizisinin genomik yapısı gösterilmiştir. Ekzonlar çizgili kutularla, intronlar ince çizgilerle, genin promotör bölgesi ise kalın çizgiyle gösterilmiştir. Tek mükleotit polimorfizmleri (SNP), C/T (-799), A/G (-381) ve C/G (+17) bölgeleri olup, CAAT box (-49 ile -52), TATA box (TTTAAA) (-28 ile -33) bölgesi olarak gösterilmiş ve transkripsiyonun başlangıç yeri olarak gösterilmiştir. Ekzon 1 translasyon yeri olarak belirtilmiştir. Diğer iki potansiyel ekzonlar; ekzon 1 ve ekzon 2 arasında 91bç ve 67 bç, intron 1 içinde gösterilmiştir. (Wang ve diğ. 2004).

İnsan MMP-8 geni 11q22.2-q22.3 koluna lokalize olup 12 ekzondan oluşmaktadır (Yang ve diğ., 1991).



Şekil 1.9. İnsan MMP-8 geninin promotör ve genomik yapısı (Wang ve diğ. 2004).

MMP ailesinin üyesi olan MMP-8 yakın zamanda tümör ilerlemesi esnasında koruyucu rol oynayan bir aday olarak ortaya çıkmıştır (Balbin ve diğ., 2003).

MMP-8 özellikle nötrofiller tarafından üretilmekte ve bu enflamatuar koşullar ile ilişkili doku yeniden şekillenmesi süreçlerinden de sorumlu tutulmaktadır (Owen ve diğ., 2004; Folgueras ve diğ., 2008).

MMP-8 hücre dışı proteazlar grubuna dahildir ve hücre dışı matris parçalayabilme yeteneğine sahiptir (Brinckerhoff ve Matrisian, 2002). Birçok MMP-8

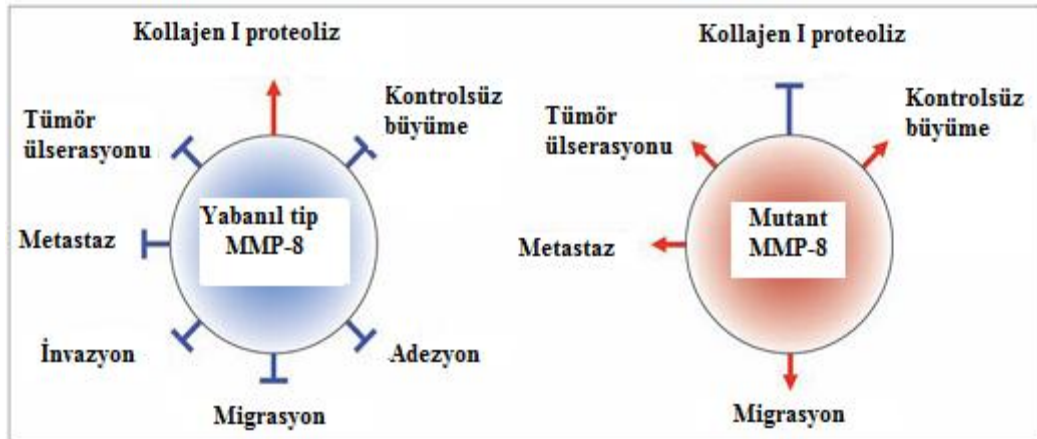
substratların yanı sıra bu gibi diğer hücre dışı matris proteinleri, proteazlar, hücre yapışma proteinleri, proteaz inhibitörleri, büyüme faktörleri, kemokinler de vardır (López-Otín ve diğ., 2009).

En sık mutasyona uğrayan MMP genlerinden biri MMP-8 dir. MMP-8'in bir tümör baskılayıcı gen olduğunu düşünülmektedir (Balbin ve diğ., 2003). MMP-8 de üç farklı polimorfizm tanımlanmıştır (Wang ve diğ., 2004) ( Tablo 1.2).

**Tablo 1.2.** MMP-8 polimorfizm bölgeleri ve SNP numaraları (Wang ve diğ., 2004' den adapte edilmiştir).

Polimorfik Bölge	SNP Numarası	Lokalizasyon
-799C/T	rs11225395	Promotör
-381A/G	rs1320632	Promotör
+17C/G	rs2155052	transkripsiyon başlangıcı

Yabanıl tip MMP-8 kendi proteolitik aktivitede göç ve metastaz gibi tümörögenезin çeşitli aşamalarından koruyarak tümör baskılayıcı faaliyetlerini gösterirken buna karşılık, mutant MMP-8 kendi proteolitik yeteneğini kaybeder ve tümöröjenik fenotipleri artırır (Şekil 1.10) (López-Otín ve diğ., 2009).



**Şekil 1.10.** Yabanıl tip ve mutant MMP-8 fonksiyonel etkileri. (López-Otín ve diğ., 2009).

### 1.8. Matris Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri (TIMP'ler)

TIMP'ler, bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesi için temel olan proteinlerdir. TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4 olmak üzere dört tip TIMP tanımlanmıştır (Visse ve Nagase, 2003). 84-194 aminoasit içerirler. Temel olarak N-terminal ve C-terminal alt bölgesi bulunur. Bu bölgeler 3 tane korunmuş disülfid bağı

içerirler ve N-terminal bölgesine MMP inhibitör aktivitesine sahip bağımsız bir ünite bağlıdır (Nagase ve diğ., 2006).

TIMP'ler de MMP'ler gibi damar düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilirler. TIMP'ler MMP etkinliğini baskılama yönünden benzerlik göstermekle birlikte matristeki yerleşimleri ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi yönünden aralarında farklılıklar gösterir. TIMP-4, TIMP ailesinin en son tanımlanmış üyesi olup kalp damar sisteminde özellikle de miyokarda yüksek oranda ifade edilmektedir (Spinale, 2007).

Tanımlanan bu TIMP' ların ortak özellikleri 12 tane korunmuş sistein rezidüsüne sahip olmaları ve metalloproteinazlar ile nonkovalent kompleksler oluşturup inhibe edebilmeleridir (Brew ve diğ., 2000). Metalloproteinazların etkisi ile oluşan bazal membran ve ESM parçalanmasını inhibe etmeleri TIMP'lerin en önemli fonksiyonlarıdır. TIMP'ler bu fonksiyonlarını aktif metalloproteinazlara kovalent olmayan bağlarla bağlanıp kompleks oluşturarak gösterir (Reel, 2006).

Son yıllarda peptid ve peptid olmayan yapıda sentetik MMP inhibitörleri de üretilmiş ve bu inhibitörler en çok kanser tedavisinde kullanılmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, artrit, psöriyazis, peridontal hastalık ve makula dejenerasyonu gibi farklı hastalıkların tedavisinde denenmiştir. İlaçların düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu azalttıkları, dolayısıyla ateroskleroz gelişimini inhibe ettikleri de deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (Zempo, 1996).

## 2.AMAÇ

Mide kanseri kanser ölümlerine neden olan en önemli kanser türlerindedir. Azalan insidansına rağmen dünya genelinde mide kanseri en yaygın ikinci kanserdir. Mide kanserlerinde prognoz üzerine etkili olduğu düşünülen birçok faktör araştırma konusu olmuştur (Malkoç, 2011).

MMP' ler hücre dışı matris ve bazal membranı degrades etme yeteneğine sahip proteolitik enzimlerinin süper ailesi olup tümör gelişimi, ilerlemesi ve metastazı ile ilişkili bulunmuştur (Stamenkovic, 2000; Bodey ve diğ., 2001). Buna ek olarak, son çalışmalar MMP' lerin apoptoz ve kansere karşı immün cevap etkisi olduğunda göstermiştir (Egebland ve Werb, 2002).

MMP-8 promotör bölgesinde kanser gelişimine duyarlı polimorfizmlerin arasındaki ilişkiyi doğrulamak için yapılan herhangi bir epidemiyolojik çalışma yoktur (Stamenkovic, 2000; Bodey ve diğ., 2001).

Genetik polimorfizmler, bazı hastalıklara karşı duyarlılıkta kişisel farklılıkları belirlememizi sağlarken, bazı gen polimorfizmleri (allel) bir hastalık riskini arttırırken bazıları azaltabilmekte (koruyucu allel), bazı polimorfik alleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir. Kanser gelişiminde genlerin ve varyasyonlarının, çevresel risk faktörleriyle birlikte olan etkisi, tek tek göstermiş oldukları etkinin toplamından daha fazla olabilmektedir. Kanser gelişimi ya da kansere yatkınlıkla ilgili genlerin ve polimorfizmlerin bilinmesi, hiç şüphesiz pek çok kanserin erken tanısı ve tedavisinde yararlı olacaktır (Ekmekçi ve diğ., 2008).

MMP-8 geni ile yapılan polimorfizm çalışmalarında akciğer kanseri, mesane kanseri ve karaciğer kanseri ve mide kanseri ile ilişkileri incelenmiştir fakat mide kanserinde sadece MMP-8 C-799T polimorfizmi ile yapılan çalışma henüz bulunmamaktadır. Bu çalışma ise Türk populasyonunda mide kanseri hastalarının

mide tümörlü dokularında ve normal dokularında sadece MMP-8 geni promotörü C-799T polimorfizminin incelendiği ilk çalışmadır.

Yapılan bu çalışmada polimorfizm PZR-RFLP yöntemi ile araştırılıp, tespit edilen genotiplerin kontrol grubu ile sigara ve alkol kullanımı gibi çevresel faktörlerin yanı sıra cinsiyet yaş ve aile hikayesi açısından alel ve genotip frekanslarını karşılaştırarak polimorfizminin hastalığa etkisinin incelenmesi ve hasta grubunda kendi içinde *H. pylori* enfeksiyonu, invazyon derinliği, tümör evresi, tümör nekrozu açısından karşılaştırılması hedeflenmiştir



### **3.GEREÇLER**

#### **3.1. Araştırmada Kullanılan Örnekler**

Bu çalışmada kullanılan 44 adet mide kanserli hastanın tümör ve normal doku örnekleri 2006-2009 yılları arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ve Patoloji Ana Bilim Dallarından temin edilmiş olup -80 ° C’de muhafaza edilmiştir. Ayrıca kontrol grubu olarak Florance Nightingale ve Acıbadem Hastanesi Genetik Tanı Merkezinden malignite dışı sebeplerle başvuran 54 bireyden izole edilen DNA örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Örnekler 2405/296 numaralı İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurul izni ile kullanılmıştır.

#### **3.2. Araştırma İçin Laboratuvarda Kullanılan Cihazlar ve Markaları**

<b>CİHAZLAR</b>	<b>MARKA</b>
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 Terazı, XB220 A (Presica)
Su Banyoları	: Nüve BM 402
Vorteks	: Heidolph REAX
Su Arıtma Sistemi	: Millipore Milli Q Synthesis A10
Buzdolapları	:Beko 8742, Arçelik 3061 Plus
Derin Dondurucular	: -20 °C, Arçelik 2021 D,

Mikropipet Seti : -80 °C, Thermo Fisher Scientific  
: 0,2-2, 2-20, 20-200, 200-1000µl'lik  
Finnpipette (Thermo Scientific, FİNLANDIYA)

### 3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu İçin Gerekli Enzim ve Kimyasallar

10X MgCl<sub>2</sub> 'süz Tampon : 200 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  
750 mM Tris-HCl (pH 8,8),  
% 0,1 Tween 20  
(Fermentas, LİTVANYA)

MgCl<sub>2</sub> : dH<sub>2</sub>O' da 25 mM  
(Fermentas, LİTVANYA)

Deoksiribonükleotitler (dNTP) : 100 mM dATP, dCTP, dGTP, ve dTTP  
(Fermentas, LİTVANYA)

Taq DNA Polimeraz : Rekombinant Taq DNA Polimeraz  
(Fermentas, LİTVANYA)

### 3.4. Primerler

Bu çalışmada incelenen polimorfik bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primer diziler tablo 1.3' de gösterilmiştir. Primerler elips firmasından temin edilmiştir. Primerler dizayn edilirken ise Qiu ve arkadaşlarının çalışmasından referans alınmıştır (Qiu ve diğ., 2008).

**Tablo 1.3.** MMP-8 C-799T polimorfik bölgesini oluşturup çoğaltmak için kullanılan primerler

PRİMER	PRİMER DİZİSİ
İLERİ	5'- GCTGCTTCTGGAGGATGTGGTTTGG -3'
GERİ	5'-GCCAGAGACTCAAGTGGGAGACTACCATGCAGATC-3'

### 3.5. Elektroforez İçin Kullanılan Tamponlar ve Kimyasallar

10X TBE (Tris-Borik Asit – EDTA) (pH 8,3)	: 890 mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 750 mM Tris-HCl (pH 8,8), % 0,1 Tween 20 (Fermentas, LİTVANYA)
6X DNA yükleme boyası	: 10 mM 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)
Etidyum Bromür (EtBr)	: 10 mg/ ml (Sigma, ALMANYA)
Agaroz Jel	: 0,5 X TBE tamponunda %0,7, % 1, %4'lük Agaroz (Prona,EEC)

### 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 ).

## 4. YÖNTEMLER

### 4.1. Primer Tasarımı

MMP-8 geni promotör bölgesi C-799T SNP (tek nükleotit polimorfizm) analizi için PZR ile çoğaltılacak hedef bölgenin belirlenmesinde kullanılan dizi NCBI fasta sekanstan ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=11225395](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=11225395)) elde edilip ileri primer diziyeye spesifik seçilirken, geri primerin 3' ucunun 2. pozisyonundaki A yerine T yerleştirilerek bir bazı hedef diziyeye yanlış eşleşme olacak şekilde tasarlandı. Primerlerin şekil 4.1'deki hedef dizi amplifikasyonu NCBI BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>) ile test edildi. Geri primerdeki yanlış eşleşme Bgl II enzimi için, enzim tanıma bölgesi C/T polimorfizmi için seçildi. Pembe ile vurgulanmış olan bölgeler primer bağlanma bölgelerini, yeşil ile vurgulanmış olan bölge primerin değiştirilen bazını ve sarı ile vurgulanmış olan

```
5' GCTGCTTCTGGAGGATGTGGTTTGGTATCAACATATTAGAAAATCCCT
AGTCTATAAGTTAGACTTTCCATGGAAAAGATAAAGAGAACAATACTG
ATGATGATAATAATGAACATTTGCTAAAAAATTATGATTGCCAGACAT
TTGTA CTGTGTTCCACATATTACCCCAATCCATCTTCACATAGCCTTGGG
AGGGAGATGCTATTACTATCTCCATTTTACAGATGAAATCAAATCCAGA
GACATTTAGATGACCTGTTTAAGTCACATGTTTCATTTGTGGAGGGGCC
AGGATTCAACCCCAGAGGGTATGTTT TAGAGAGACTGAGCTGGGAGCTA
CTATA C/TGT/A TCTGCATGGTAGTCTCCCACTTGAGTCTCTGGC 3'
```

bölge ise restriksiyon enzimi tanıma bölgesidir.

**Şekil 4.1.** PZR ile çoğaltılacak hedef bölgenin belirlenmesi

## 4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Bu araştırmada MMP-8 promotör C-799T bölgesinin amplifikasyonu için tabloda 4.1’de gösterilen PZR koşulları dikkate alınmıştır. Yapılan PZR sonrası hedef alınan ve çoğaltılan bölgeyi kontrol etmek için 5 µl PZR ürünü ve 1 µl DNA yükleme boyası karıştırılarak % 2’lik agaroz jele 100 bç’lik DNA belirteci ile beraber yüklenip 120V-300 mA’ de 20 dk yürütüldü.

**Tablo 4.1.** BgIII polimorfik olan bölgenin çoğaltılması için belirlenmiş PZR döngüsü ve sıcaklık zaman değerleri

<b>MMP-8 C-799T (382bç)</b>		
İlk denatürasyon	94 °C, 15 dk	Döngü sayısı : 30
Denatürasyon	94 °C, 45 sn	
Bağlanma	60 °C, 45 sn	
Uzama	72 °C, 45 sn	
Son uzama	72 °C, 5 dk	

### 4.2.1. PZR Optimizasyon Çalışmaları

Bu çalışmada farklı primer bağlanma dereceleri ve farklı MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonları kullanılarak optimum deney koşulları oluşturulmaya çalışıldı. Tablo 4.2’ de oluşturulan PZR döngüsünü ve koşullarını içermektedir.

**Tablo 4.2.** BgIII polimorfik bölgenin amplifikasyonu için optimize edilmiş olan PZR koşulları ve miktarları

	<b>[Ana stok]</b>	<b>[Çalışma stoğu]</b>	<b>Miktar</b>
<b>10 X Tampon</b>	10 X	1X	2.5 µl
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	25 mM	2.5 mM	2 µl
<b>İleri primer</b>	10 mM	0.1 mM	0.25 µl
<b>Geri primer</b>	10 mM	0.1 mM	0.25 µl
<b>dNTP karışımı</b>	10 mM	0.2 mM	0.5 µl
<b>Taq polimeraz</b>	5 U/ ml	1 U	0.2 µl
<b>Primerlerin bağlanma sıcaklığı:</b>	60° C		

### 4.3. PZR Ürünlerinin Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

PZR ile amplifiye edilen hedef bölgeler tablo 4.3'deki BglII restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim koşulları Tablo 4.4.'deki miktar oranları kullanılarak 37 °C de 30 dk inkübe edildi. Hedeflenen bölgede Tablo 4.5'deki gibi fragmentler oluşturması beklenmektedir.

**BglII enzim kesim bölgesi**                      **5'..... AGATCT....3'**  
**3'..... TCAAGA....5'**

**Tablo 4.3.** BglII için reaksiyon miktar ve koşulları

Restriksiyon Enzimi	Miktar (U)	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)
BglII	1	37	30

**Tablo 4.4.** MMP-8 RFLP reaksiyon miktarları ve koşulları

5µl PZR ürünü
1µl reaksiyon tamponu (Fast Digest Green Buffer)
0,5 µl BglII restriksiyon enzimi
37°C'de 30 dk inkübasyon süresi

**Tablo 4.5.** PZR-RFLP sonucu MMP-8 için beklenen DNA fragment uzunlukları

PZR Ürünü Fragment Uzunluğu: 382 bç	
Kesim Noktası : 35 bç	Uzun Fragment: 347 bç

### 4.4. Jel Elektroforezi

Çalışmamızda PZR ürünlerini görüntülemek için % 2'lik agaroz jel ve enzim kesimini görüntülemek için ise % 3'lük agaroz jel kullanılmıştır.

### 4.5. Dizi Analizi

PZR-RFLP yöntemi ile belirlenen genotipler arasından DNA dizi analiziyle doğrulanmak üzere rastgele olarak örnekler seçilerek dizi için optimize edilmiş olan primerler ile (Tablo 4.6) amplifikasyonu son hacim 50 µl olacak şekilde tüm hacimler iki katına çıkarılarak aynı PZR koşullarında yapıldı. Ayrıca primerler 5 Mm konsantrasyonla 10 µl olacak şekilde hazırlandı.

Amplifiye edilen PZR örnekleri % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi yapıldıktan sonra pürifikasyon ve çift yönlü dizi analizi uygulaması için Macrogen firmasına gönderildi.

**Tablo 4.6.** MMP-8 dizi analizi için dizayn edilen primerler

PRİMER	PRİMER DİZİSİ
İleri	5'- GCTGCTTCTGGAGGATGTGGTTTGG -3'
Geri	5'-GCCAGAGACTCAAGTGGGAGACTACCATGCAGATC-3'

#### 4.6. MMP-8 Promotör C-799T Polimorfik Bölgesinin Moleküler Analizi

Yapılan bu çalışmada, MMP-8 geni promotör aktivitesini değiştirdiği bilinen C-799T polimorfizmi ve bu polimorfizmin mide tümörlü doku ve normal doku örnekleri PZR-RFLP yöntemi ile araştırılıp, tespit edilen genotiplerin kontrol grubuyla sigara ve alkol kullanımı gibi çevresel faktörlerin yanı sıra cinsiyet yaş ve aile hikayesi açısından alel ve genotip frekanslarını karşılaştırarak polimorfizminin hastalığa etkisi incelenmiş ve hasta grubunu kendi içinde *H. pylori* enfeksiyonu, invazyon derinliği, tümör evresi, tümör nekrozu açısından ikili karşılaştırmalar yapılarak mide kanseri ile olan ilişkisi değerlendirilmiştir. Polimorfik gen bölgesi için optimize edilen primerler ve enzimler aracılığıyla PZR yöntemi kullanılarak amplifiye edilip ardından polimorfik DNA dizileri, restriksiyon enzim kesimi ve agaroz jel elektroforezi ile incelenip değerlendirilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri ve kesim sonrası oluşan fragmentlerin uzunlukları Tablo 4.7' de gösterilmiş olup belirlenen polimorfizmlerin verileri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

**Tablo 4.7.** MMP-8 promotör polimorfizm bölgesi, kesimi ve beklenen fragment uzunlukları

Polimorfik Bölge	SNP numarası	Enzim Kesimi	Beklenen fragment uzunluğu
-799 C	rs11225395	BglII	382 bç
-799 T	rs11225395	BglII	347-35 bç
C-799T	rs11225395	BglII	382-347-35 bç

#### 4.7. İstatistiksel Veri Analizi

Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS 19.0 istatistik paket programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken ise tanımlayıcı istatistiksel metotların (Frekans, Yüzde, Ortalama, Standart sapma) yanı sıra normal dağılımın incelenmesi için Kolmogorov - Smirnov dağılım testi kullanıldı.

Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi ve Fisher Exact test kullanıldı. Bazı çapraz tabloları oluşturan değişkenler arasındaki ilişkiler ise Cramers' V tekniği ile değerlendirildi. Cramers' V ise kategori sayısı ikiden fazla olan nominal değişkenler arasındaki ilişkinin düzeyini gösterir. Cramers' V istatistiğinin alabileceği değerler 0.00 ile 1.00 arasında değişmektedir. 0.00 iki değişken arasında hiçbir ilişkinin olmadığını gösterirken, 1.00 iki değişken arasındaki ilişkinin doğrusallığının mükemmel olduğunu gösterir. Değerler için 0.33'ün altındaki ilişkiler zayıf, 0.34-0.60 civarındaki ilişkiler orta, 0.61 ve daha yüksek ilişkilerin ise güçlü olduğu varsayılır. Risk faktörlerini çok değişkenli incelemek için ise lojistik regresyon analizi kullanıldı.

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



## 5. SONUÇLAR

### 5.1. Örneklerin Tanımı

Çalışmamızda mide kanser olgusu olan 44 hastanın tümör dokusu ve bu hastaların çevre mide normal dokuları olmak üzere toplamda 44 çift örnek kullanılmıştır. Bunun yanı sıra kontrol grubunu oluşturan 54 adet örnek kullanılmıştır. Mide kanser hastalarında, tümörlü dokularda ve normal dokularda ayrı ayrı yüzdelik oranları, genotip frekansları, yaş ortalamaları  $\pm$  standart sapma olarak da hesaplanarak Tablo 5.1 'de gösterilmiştir. Hasta grubunda görülen *H.pilori* enfeksiyonu, invazyon derinliği, tümör evresi ve tümör nekrozu bulguları dikkate alınarak ikili karşılaştırmalar yapılmıştır. Kontrol grubu için ise yaş ortalaması ve standart sapma değerleri ve belli özelliklerinin yüzdesi Tablo 5.2 'de gösterilmiştir.

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

	n (Hasta Sayısı)	Ortalama	Standart sapma	
Yaş	44	58,27(33-84)	$\pm 12,81$	
Cinsiyet				
Kadın	14	57,14	$\pm 15,43$	
Erkek	30	58,8	$\pm 11,7$	
Mide kanseri	N (Hasta Sayısı)	% (Yüzde)	Bilgisi olan hasta sayısı	Bilgisi olmayan hasta sayısı
Toplam hasta	44			
<i>H. pilori</i>	14	39	36	8
Tümör Evresi			30	14
1	5	17		
2	10	33		
3	15	50		
İnvazyon derinliği			43	1
L.propria/M.mukoza/ Submukoza	6	14		
M.propria	10	23		
Subseroza	1	2		
Seroza	26	60		
Tümör nekrozu	22	50	44	0
Sigara	23	58	40	4
Alkol	7	18	40	4
Aile hikayesi	11	28	40	4

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

	n(örnek Sayısı)	Ortalama	Standart sapma	
Yaş	54	56,44 (50-76)	± 6,27	
Cinsiyet				
Kadın	32	55,69	±6,08	
Erkek	22	57,54	±6,51	
Kontrol grubu	N (örnek Sayısı)	% (Yüzde)	Bilgisi olan örnek sayısı	Bilgisi olmayan örnek sayısı
Sigara	11	29.7	37	17
Alkol	0	0	54	0
Aile hikayesi	0	0	54	0

## 5.2. MMP-8 Geni C-799T Promotör Bölgesi Polimorfizm Analizi

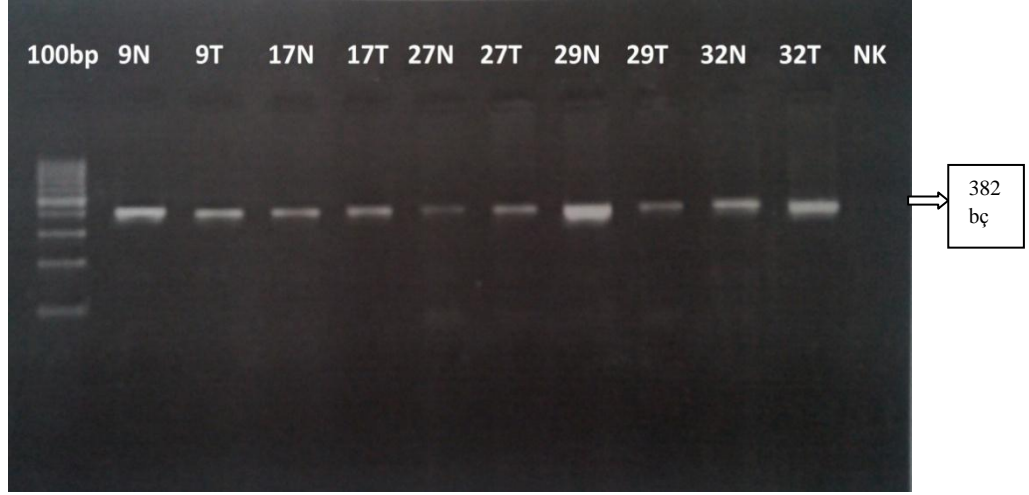
### 5.2.1. İlgili Gen Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması

Bu aşamada DNA örneklerinin MMP-8 gen promotör bölgesini içeren kısmın amplifikasyonunu sağlamak için örnekler termal döngü cihazında işleme tabi tutulmuştur. PZR aşamasında geri primer ile dizi üzerinde yönlendirilmiş mutasyon yapılarak RFLP işlemi için kullanılacak BglII enzimi için uygun kesim bölgesi oluşturulması amaçlanmıştır. Bu nedenle geri primer üzerinde kalın olarak gösterilen Timin bazı sekans içine sokularak BglII enzimi için kesim bölgesi oluşturulmuştur.

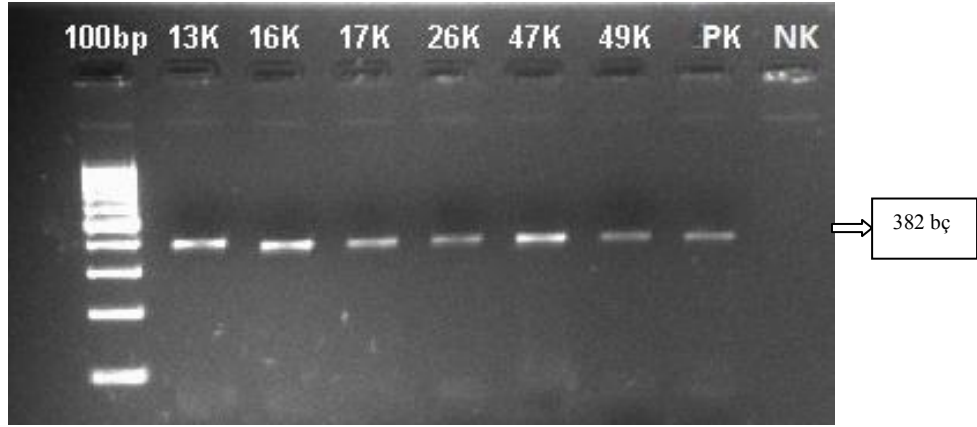
İleri Primer : 5'- GCTGCTTCTGGAGGATGTGGTTTGG -3'

Geri Primer : 5'-GCCAGAGACTCAAGTGGGAGACTACCATGCAGATC-3'.

Çalışmamızda DNA amplifikasyonu sonucunda ilgili gen bölgesinin 382 bp'lik DNA fragmenti beklenmektedir. Bu DNA fragmenti ise 100 bp' lik belirteç ile % 2'lik agaroz jel elektroforezinde görüntülenmiştir. (Şekil 5.1 ve Şekil 5.2)



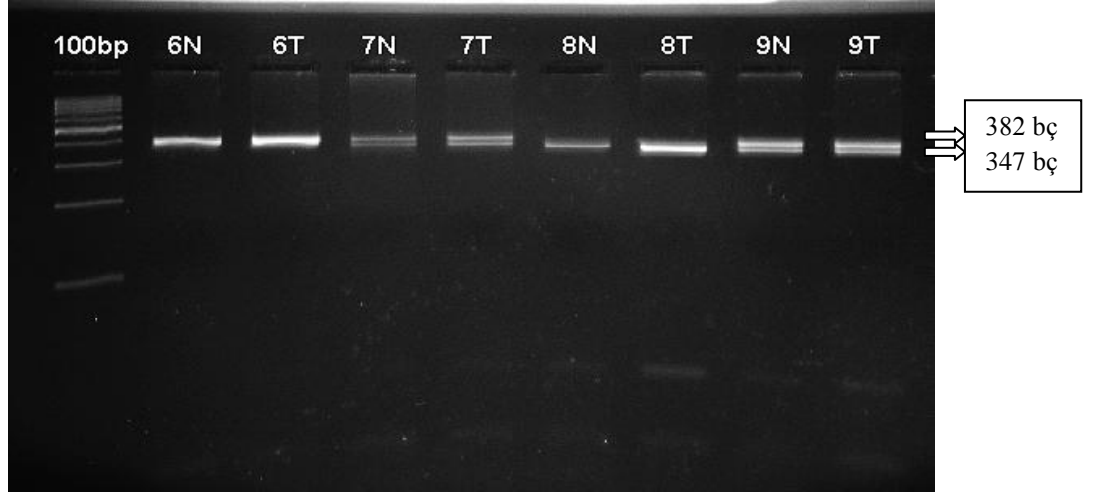
**Şekil 5.1.** MMP-8 C-799T polimorfik promotör bölgesinin PZR ile amplifikasyon sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görünümü (T: Tümör doku, N: Normal doku, NK: Negatif kontrol)



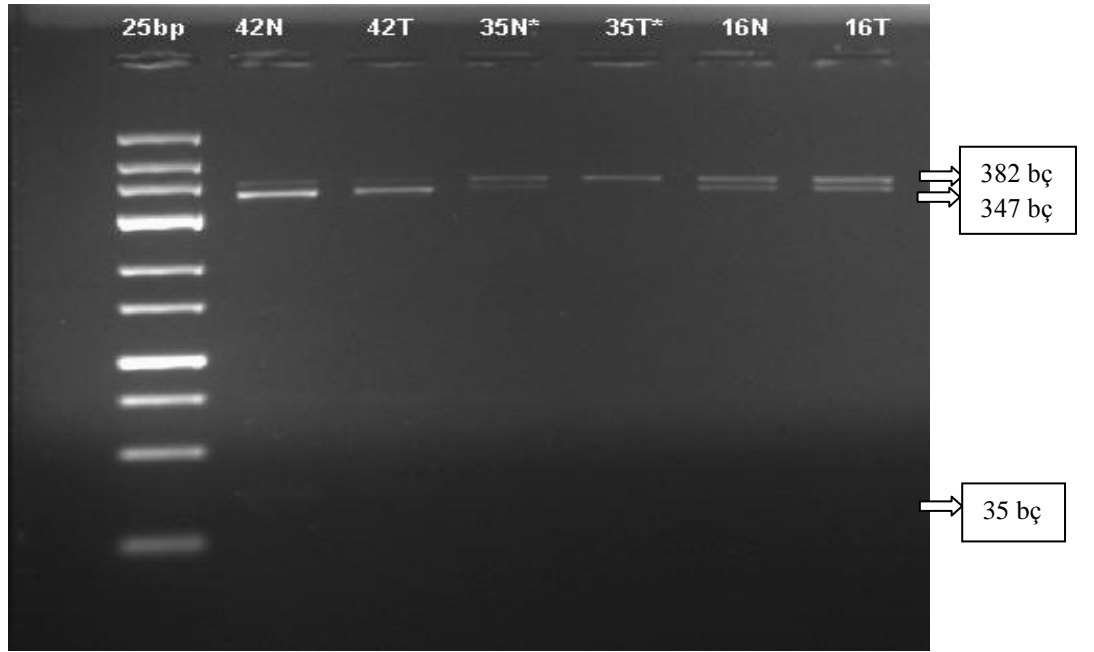
**Şekil 5.2.** MMP-8 C-799T polimorfik promotör bölgesinin PZR ile amplifikasyon sonuçlarının %2'lik agaroz jelde görünümü (K: Kontrol grubu, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol).

### 5.2.2. PZR Ürünlerinin Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi

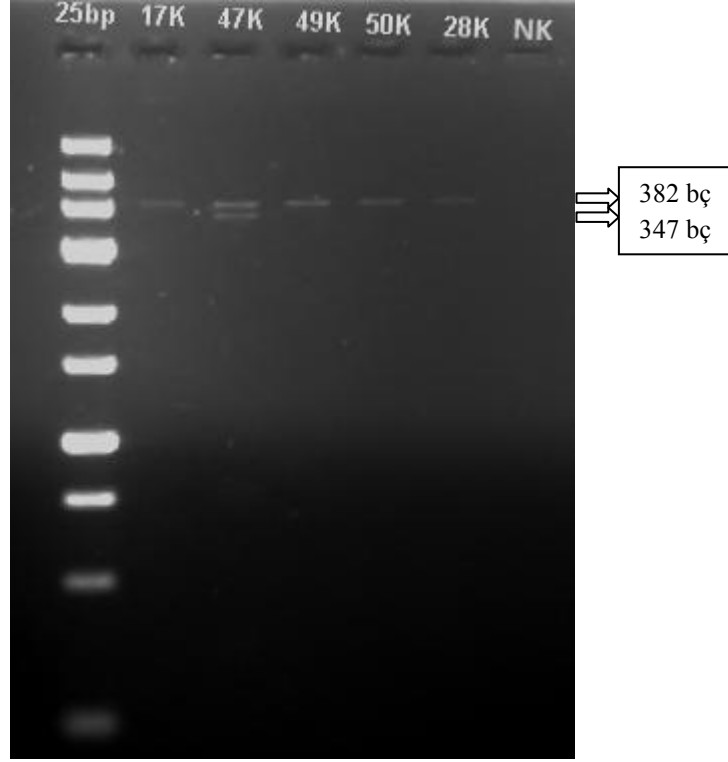
Çalışmamızda amplifikasyon sonucu elde ettiğimiz 382 bç' lik PZR ürünlerini BglII restriksiyon enzimi ile 37 ° C'de 30 dk inkübasyonda bırakıldıktan sonra % 3'lük agaroz jelde analiz edildi. Hasta grubunda normal ve tümörlü dokuya ait beş örnek farklı genotipe sahipken (Şekil 5.3.) geri kalan 39 örnek aynı genotipe sahip olduğu saptandı. Hasta ve kontrol grubunda CC, CT, TT genotiplerinin hepsi gözlemlendi (Şekil 5.4. ve Şekil 5.5)



**Şekil 5.3.** Polimorfik promotör bölgesi amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının % 3' lük agaroz jelde görünümü ( Hasta grubuna ait normal ve tümörlü dokulardan 6 N-T homozigot CC, 7 N-T heterozigot CT, 8 N-T homozigot CC, 9 N-T heterozigot CT ' dir).



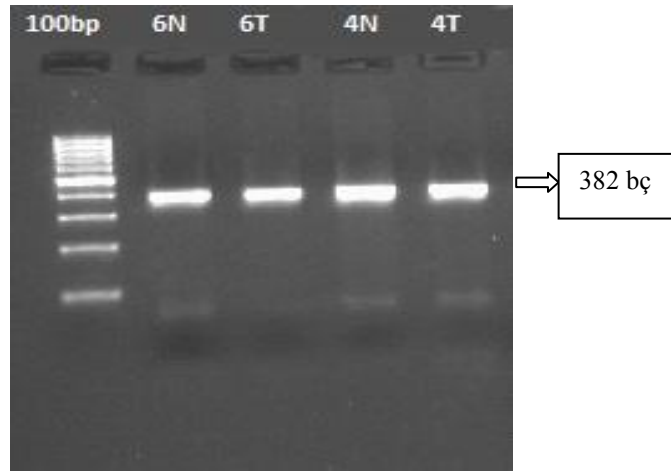
**Şekil 5.4.** Polimorfik promotör bölgesi amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının % 3' lük agaroz jelde görünümü. Hasta grubundaki normal ve tümörlü dokulardan 42 N-T homozigot TT, 35 N heterozigot CT, 35T homozigot CC, 16 N-T heterozigot CT olan örneklerdir. 35 N\*- 35 T\* normal doku ve tümörlü dokunun farklı genotipe sahip olduğu örneklerdir).



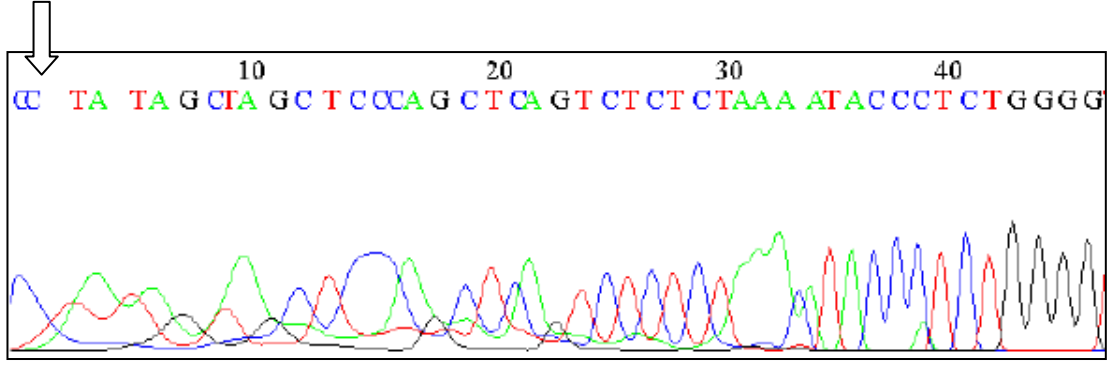
**Şekil 5.5.** Kontrol grubuna ait amplifikasyonu yapılan örneklerin RFLP sonuçlarının % 3' lük agaroz jelde görünümü.

### 5.2.3. Dizi Analizi

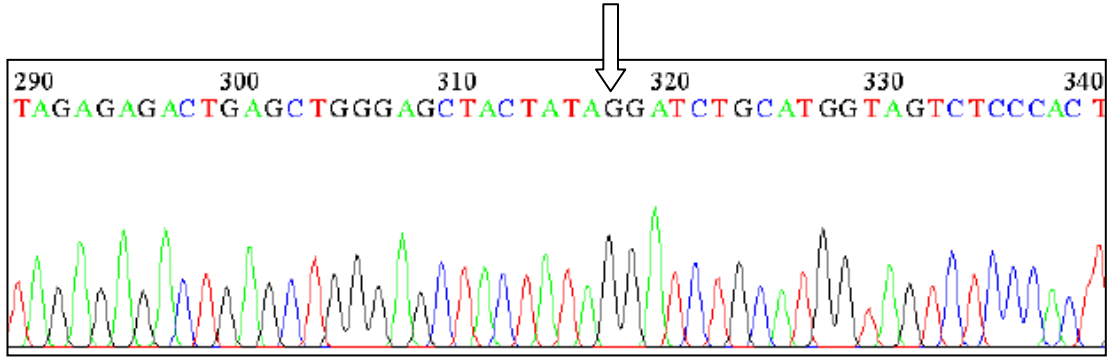
DNA pürifikasyonu ve dizi analizi için rastgele seçilerek hazırlanan örneklerin PZR görüntüleri Şekil 5.6' da dizi analizi sonuçlarının gösterimi ise Şekil 5.7, Şekil 5.8, Şekil 5.9 ve Şekil 5.10' da kromotogram sonuçlarında gösterilmiştir. Sonuçlar beklenilenle aynı doğrultuda gözlemlenmiştir



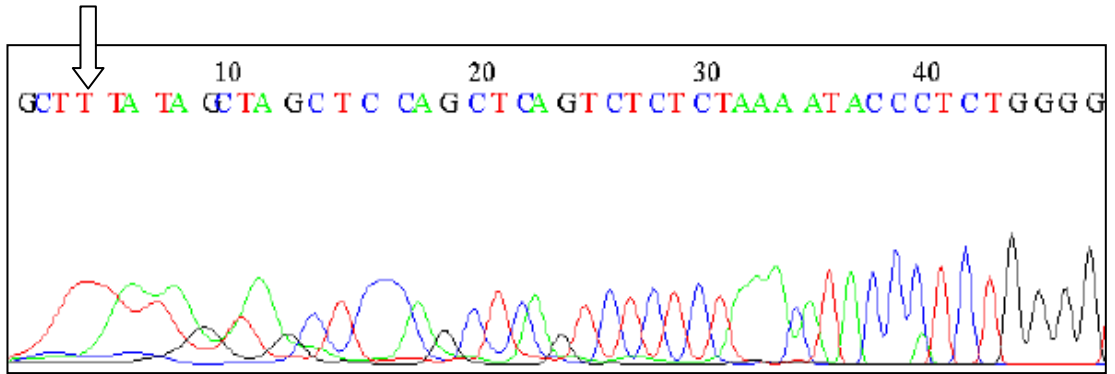
**Şekil 5.6.** Dizi analizine gönderilecek PZR örneklerinin % 2' lik agaroz jelde görüntüsü



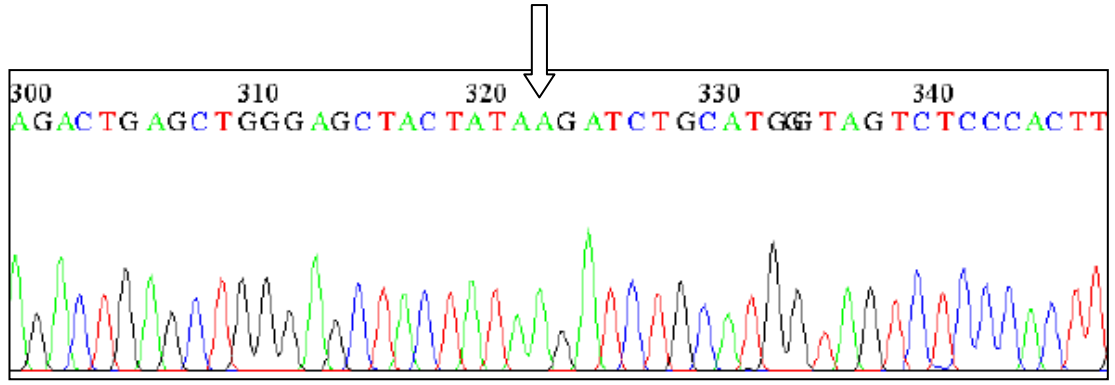
Şekil 5.7 MMP-8 C-799T promotör bölgesi CC homozigot kromotogram görüntüsü (6N örneği geri dizisi)



Şekil 5.8. MMP-8 C-799T promotör bölgesi CC homozigot kromotogram görüntüsü (6N örneği ileri dizisi)



Şekil 5.9. MMP-8 C-799T promotör bölgesi TT homozigot kromotogram görüntüsü (4T örneği için geri dizisi)



**Şekil 5.10.** MMP-8 C-799T promotör bölgesi TT homozigot kromotogram görüntüsü (4T örneği için ileri dizisi)

### 5.3. Verilerin İstatistiksel Analizi

PZR-RFLP sonucu elde edilen hasta grubu ve kontrol gurubu dokularına ait genotip dağılımları analiz edilip genotip ve alel frekansları karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte hastalık oluşumu ile cinsiyet, aile hikayesi, sigara içimi ve yaş ilişkisi incelenmiştir. İstatistiksel analizler için istatistik paket programı kullanılmıştır (Kolmogorov- Smirnov, Pearson khi- kare testi, fisher exact ve cramer's v).

#### 5.3.1. Hardy Weinberg Analizi

Gözlenen genotip frekanslarından yararlanılarak alel frekansları ve beklenen genotip frekansları hesaplanarak Tablo 5.3, Tablo 5.4 ve Tablo 5.5. de gösterilmiştir. Gözlenen ve beklenen değerler ki-kare testi yapılarak karşılaştırılmış ve kullanılan örneklerin Hardy-Weinberg dengesine uygunlukları incelenmiştir (Tablo 5.6.).

**Tablo 5.3.** Hasta grubu tümör dokularına ait MMP-8 -799. promotör bölgesi genotip ve allelotip sayısı ve frekansları

Genotip	Genotip sayısı	Genotip frekansı	Allelotip	Allelotip sayısı	Allelotip frekansı
CC	19	0.43	C	55	0.63
CT	17	0.39			
TT	8	0.18	T	33	0.37
TOTAL	44	1	TOTAL	88	1

**Tablo 5.4.** Hasta grubu normal dokulara ait MMP-8 -799. promotör bölgesi genotip ve allelotip sayısı ve frekansları

Genotip	Genotip sayısı	Genotip frekansı	Allelotip	Allelotip sayısı	Allelotip frekansı
CC	17	0.39	C	55	0.63
CT	21	0.48			
TT	6	0.13	T	33	0.37
TOTAL	44	1	TOTAL	88	1

**Tablo 5.5.** Kontrol grubuna ait MMP-8 -799. promotör bölgesi genotip ve allelotip sayısı ve frekansları

Genotip	Genotip sayısı	Genotip frekansı	Allelotip	Allelotip sayısı	Allelotip frekansı
CC	22	0.41	C	73	0.68
CT	29	0.54			
TT	3	0.05	T	35	0.32
TOTAL	54	1	TOTAL	108	1

**Tablo 5.6.** Hasta ve kontrol gruplarının ki-kare ve p değerleri

	Ki-kare ( $X^2$ )	P
Hasta grubu normal dokusu	0.015	0.904
Hasta grubu tümörlü dokusu	1.359	0.243
Kontrol grubu	2.754	0.097

### 5.3.2. Polimorfizm ile Hastalık İlişkisinin Araştırılması

Hasta ve kontrol gruplarının alel frekanslarının karşılaştırılması esasına dayanmaktadır.

#### 5.3.2.1. Çapraz Tablolar ve Ki-kare Bağımsızlık Testi

Hasta grubunun normal doku genotipi ile tümörlü doku genotipi dağılımı kolmogorov-smirnov dağılım testi kullanılarak Tablo 5.7' de gösterilmiştir. Hasta grubu normal doku genotipleri ve tümörlü doku genotipleri ile oluşturulan çapraz tablolar ve ki-kare analizi ise cramer's V tekniği kullanılarak değerlendirilmiş ve Tablo 5.8' de gösterilmiştir.



**Tablo 5.7.** Hasta grubunun normal doku genotipleri ile tümörlü doku genotiplerinin dağılımı

	Hasta grubu Normal doku		Hasta grubu Tümörlü doku	
	N	%	N	%
CC	17	39%	19	43%
CT	21	48%	17	39%
TT	6	13%	8	18%

**Tablo 5.8.** Hasta grubunun normal doku genotipleri ve tümörlü doku genotiplerinin çapraz tablosu ve ki-kare analizi

		Normal Doku						P
		CC		CT		TT		
		n	%	n	%	N	%	
Tümörlü Doku	CC	16	% 94,1	3	% 14,3	0	% 0,0	Cramer's V = 0,833 p=0,000****
	CT	0	% 0,0	17	% 81,0	0	% 0,0	
	TT	1	% 5,9	1	% 4,8	6	% 100	

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

Cramer's V tekniği ile yapılan karşılaştırma sonucunda hasta grubu normal doku genotipi ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı uyum bulunmuştur (cramer's V = 0,843; p= 0,000<0.05). Normal doku genotipi CC olanların 16'sının (% 94,1) CC genotipi, 1'i (% 5,9) TT genotipi; normal doku genotipi CT olanların 3'ünün (% 14,3) CC genotipi, 17'si (% 81,0) CT genotipi, 1'i (% 4,8) TT genotipi; normal doku genotipi TT olanların 6'sının (% 100) TT genotipine sahip olduğu görülmektedir (Tablo 5.8.). Bu anlamlı uyumluluk doğrultusunda bundan sonraki analizlere hasta grubunun normal dokusu ile devam edilmiştir.

Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikler açısından karşılaştırılması Tablo 5.9' da, genotipler açısından karşılaştırılması ise Tablo 5.10' da gösterilmiştir.

**Tablo 5.9.** Demografik özellikler

		Hasta		Kontrol		P
		N	%	N	%	
Cinsiyet	Kadın	15	32,6%	34	65,4%	<b>0,001**</b>
	Erkek	31	67,4%	18	34,6%	
Sigara	Yok	17	42,5%	24	70,6%	<b>0,014*</b>
	Var	23	57,5%	10	29,4%	
Alkol	Yok	33	82,5%	52	100,0%	<b>0,002**</b>
	Var	7	17,5%	0	0,0%	
Aile Hikayesi	Yok	29	72,5%	52	100,0%	<b>0,000***</b>
	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

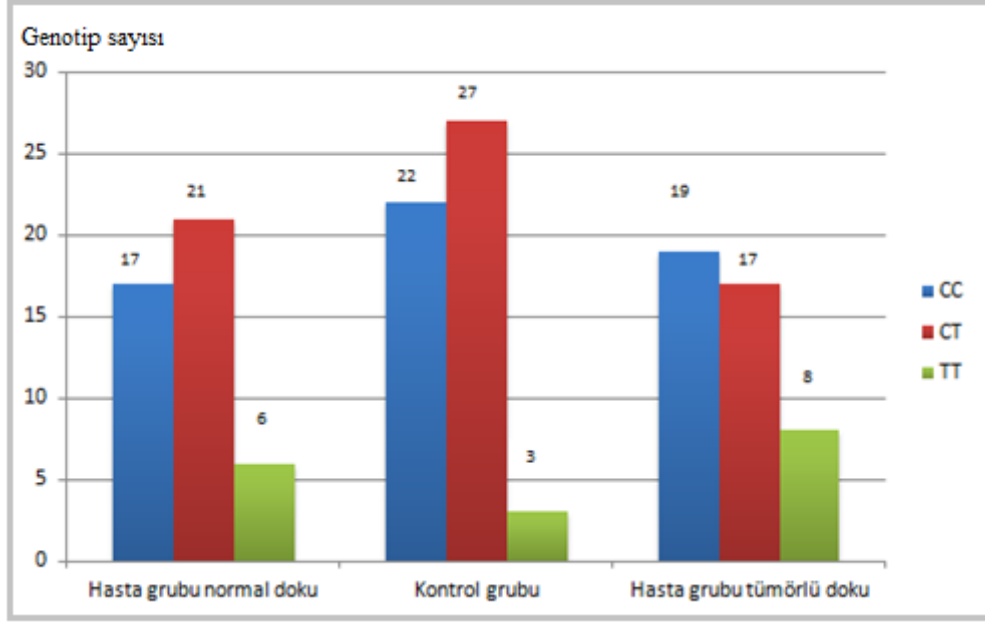
Hasta grubundaki olgularda erkek olguların oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (p=0,001<0,05). Hasta grubundaki olgularda sigara kullanım oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (p=0,014<0,05). Hasta grubundaki olgularda alkol kullanım oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (p=0,002<0,05). Hasta grubundaki olgularda aile hikayesi oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (p=0,002<0,05) (Tablo 5.9.).

**Tablo 5.10.** Hasta grubunun normal doku genotipleri ile kontrol grubu genotiplerinin karşılaştırılması

	Hasta		Kontrol		P
	N	%	N	%	
<b>CC</b>	17	38,6%	22	42,3%	0,715
<b>CT</b>	21	47,7%	27	51,9%	0,682
<b>TT</b>	6	13,6%	3	5,8%	0,188

Hasta grubunun normal doku genotipi ile kontrol grubu genotipi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (p>0,05) (Tablo 5.10.).

Hasta grubunun normal doku genotipleri, tümörlü doku genotipleri ve kontrol grubunun genotiplerinin karşılaştırılması ise Şekil 5.11' de gösterilmiştir.



Şekil 5.11. Hasta grubunun normal doku genotipleri, tümörlü doku genotipleri ve kontrol grubu genotiplerinin dağılımı.

### 5.3.3. Lojistik Regresyon Analizi

Yaş, cinsiyet, sigara ve genotipin mide kanseri oluşumuna etkisi pearson ki-kare testi, fisher exact testi ve cramers'V testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildiğinde mide kanseri oluşumu için istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 5.11.)

Tablo 5.11. Hasta grubu normal doku genotipleri ile lojistik regresyon analizi

	P	OR	95% C.I.for OR	
			Lower	Upper
Yaş	0,579	0,985	0,935	1,038
Cinsiyet	0,272	1,850	0,617	5,552
Sigara	0,100	2,563	0,834	7,877
genotip CC#	0,434	1,000		
genotip CT#	0,208	4,721	0,420	53,010
genotip TT#	0,206	4,669	0,429	50,861

### 5.3.4. Hasta Grubunda Demografik ve Hastalık Özelliklerinin Genotip ile İlişkisi

Hasta grubunda normal doku ve tümörlü dokuların demografik ve hastalık özelliklerinin genotip ile ilişkisi pearson ki-kare testi ve fisher exact testi kullanılarak incelenmiştir. (Tablo 5.12. ve Tablo 5.13.)

**Tablo 5.12.** Hasta grubunda normal dokuların demografik ve hastalık özelliklerinin genotip ile ilişkisi

		CC		CT		TT		P
		N	%	n	%	n	%	
Cinsiyet	Kadın	6	% 35,3	7	% 33,3	1	% 16,7	0,687
	Erkek	11	% 64,7	14	% 66,7	5	% 83,3	
Sigara	Yok	7	% 43,8	7	% 36,8	3	% 60,0	0,642
	Var	9	% 56,3	12	% 63,2	2	% 40,0	
Alkol	Yok	12	% 75,0	17	% 89,5	4	% 80,0	0,526
	Var	4	% 25,0	2	% 10,5	1	% 20,0	
Aile Hikayesi	Yok	11	% 68,8	14	% 73,7	4	% 80,0	0,875
	Var	5	% 31,3	5	% 26,3	1	% 20,0	
Tümör Nekrozu	Yok	12	% 70,6	9	% 42,9	1	% 16,7	0,050
	Var	5	% 29,4	12	% 57,1	5	% 83,3	
HG	I	2	% 14,3	3	% 21,4	0	% 0,0	0,582
	II	6	% 42,9	4	% 28,6	0	% 0,0	
	III	6	% 42,9	7	% 50,0	2	% 100,0	
İnvazyon derinliği	I	2	% 11,8	4	% 20,0	0	% 0,0	0,043
	II	7	% 41,2	3	% 15,0	0	% 0,0	
	III	0	% 0,0	0	% 0,0	1	% 16,7	
	IV	8	% 47,1	13	% 65,0	5	% 83,3	
H.pilori	Yok	10	% 76,9	10	% 58,8	2	% 33,3	0,187
	Var	3	% 23,1	7	% 41,2	4	% 66,7	

Cinsiyet ile normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $\chi^2=0,752$ ;  $p=0,687>0,05$ ). Normal doku genotipi CC olanların 6'sının (%35,3) kadın, 11'i (%64,7) erkek; normal doku genotipi CT olanların 7'si (%33,3) kadın, 14'ünün (%66,7) erkek; normal doku genotipi TT olanların 1'i (%16,7) kadın, 5'i (%83,3) erkek olduğu görülmektedir (Tablo 5.12.).

Sigara ile normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $\chi^2=0,886$ ;  $p=0,642>0.05$ ). Normal doku genotipi CC olanların 7'si (%43,8) sigara kullanmazken, 9'u (%56,2) kullanmaktadır. Normal doku genotipi CT olanların 7'si (%36,8) sigara kullanmazken, 12'si (%63,2) kullanmaktadır. Normal doku genotipi TT olanların 3'ü (%60,0) sigara kullanmazken, 2'sinin (%40,0) kullandığı görülmektedir (Tablo 5.12.).

Alkol ile normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $\chi^2=1,285$ ;  $p=0,526>0.05$ ). Normal doku genotipi CC olanların 12'si (%75,0) alkol kullanmazken, 4'ü (%25,0) kullanmaktadır. Normal doku genotipi CT olanların 17'si (%89,5) alkol kullanmazken, 2'si (%10,5) kullanmaktadır. Normal doku genotipi TT olanların 4'ü (%80,0) alkol kullanmazken, 1'inin (%20,0) alkol kullandığı görülmektedir (Tablo 5.12.).

Aile Hikayesi ile normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $\chi^2=0,267$ ;  $p=0,875>0.05$ ). Normal doku genotipi CC olanların 11' inde (%68,8) aile hikayesi yok iken, 5' inde (%31,2) aile hikayesi vardır. Normal doku genotipi CT olanların 14'ünün (%73,7) aile hikayesi yok iken, 5' inde (%26,3) aile hikayesi vardır. Normal doku genotipi TT olanların 4' ünün (%80,0) aile hikayesi yok iken, 1'in de (%20,0) aile hikayesinin var olduğu görülmektedir (Tablo 5.12.).

Tümör Nekrozu ile normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ( $\chi^2=5,978$ ;  $p=0,050<0.05$ ). Normal doku genotipi CC olanların 12'sin de (%70,6) tümör nekrozu yok iken, 5' inde (%29,4) tümör nekrozu vardır. Normal doku genotipi CT olanların 9'unun (%42,9) tümör nekrozu yok iken, 12' sinde (%57,1) vardır. Normal doku genotipi TT olanların 1'in de (%16,7) tümör nekrozu yok iken, 5' inde (%83,3) tümör nekrozunun var olduğu görülmektedir (Tablo 5.12.).

Hg ile normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $\chi^2=2,857$ ;  $p=0,582>0.05$ ). Normal doku genotipi CC olanların 2'sin de (%14,3) tip I, 6'sın da (%42,9) tip II, 6' sında (%42,9) tip III; normal doku genotipi CT olanların 3'ün de (%21,4) tip I, 4' ünde (%28,6) tip II, 7'sin de (%50,0) tip III; normal doku genotipi TT olanların 2' sinde ise (%100,0) tip III düzeyinde olduğu görülmektedir (Tablo 5.12.).

İnvazyon Derinliği ile normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ( $\chi^2=13,008$ ;  $p=0,043<0.05$ ). Normal doku genotipi CC olanların 2' si (%11,8) I. derece, 7 'si (%41,2) II.derece, 8 'i (%47,1) IV. derece; normal doku genotipi CT olanların 4' ünün (%20,0) I. derece, 3' ünün (%15,0) II. derece, 13' ünün (%65,0) IV. derece; normal doku genotipi TT olanların 1' i (%16,7) III. derece, 5' i (%83,3) IV. derecede olduğu görülmektedir (Tablo 5.12.).

*H. pylori* ile normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $\chi^2=3,353$ ;  $p=0,187>0.05$ ). Normal doku genotipi CC olanların 10' u (%76,9) *H.pylori* ile enfekte değilken, 3' ü (%23,1) *H. pylori* ile enfekte; normal doku genotipi CT olanların 10' u (%58,8) enfekte değilken, 7' si (%41,2) enfekte; normal doku genotipi TT olanların 2 'si (%33,3) enfekte değilken, 4' ünün (%66,7) *H. pylori* ile enfekte olduğu görülmektedir (Tablo 5.12.)

**Tablo 5.13.** Hasta grubunda tümör dokularının demografik ve hastalık özelliklerinin genotip ile ilişkisi

		CC		CT		TT		P
		N	%	N	%	n	%	
Cinsiyet	Kadın	7	%36,8	5	%29,4	2	%25,0	0,803
	Erkek	12	%63,2	12	%70,6	6	%75,0	
Sigara	Yok	7	%38,9	5	%33,3	5	%71,4	0,222
	Var	11	%61,1	10	%66,7	2	%28,6	
Alkol	Yok	14	%77,8	13	%86,7	6	%85,7	0,776
	Var	4	%22,2	2	%13,3	1	%14,3	
Aile Hikayesi	Yok	12	%66,7	12	%80,0	5	%71,4	0,693
	Var	6	%33,3	3	%20,0	2	%28,6	
Tümör Nekrozu	Yok	12	%63,2	8	%47,1	2	%25,0	0,185
	Var	7	%36,8	9	%52,9	6	%75,0	
Hg	I	2	%13,3	3	%27,3	0	%0,0	0,728
	II	5	%33,3	3	%27,3	2	%50,0	
	III	8	%53,3	5	%45,5	2	%50,0	
İnvazyon Derinliği	I	3	%15,8	3	%18,8	0	%0,0	0,094
	II	7	%36,8	3	%18,8	0	%0,0	
	III	0	%0,0	0	%0,0	1	%12,5	
	IV	9	%47,4	10	%62,5	7	%87,5	
H.pilori	Yok	9	%69,2	9	%60,0	4	%50,0	0,676
	Var	4	%30,8	6	%40,0	4	%50,0	

Cinsiyet ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $X^2=0,438$ ;  $p=0,803>0.05$ ). Tümörlü doku genotipi CC olanların 7' si (%36,8) kadın, 12' si (%63,2) erkek; tümörlü doku genotipi CT olanların 5' i (%29,4) kadın, 12' si (%70,6) erkek; tümörlü doku genotipi TT olanların 2' si (%25,0) kadın, 6' sının (%75,0) erkek olduğu görülmektedir (Tablo 5.13.).

Sigara ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $X^2=3,009$ ;  $p=0,222>0.05$ ). Tümörlü doku genotipi CC olanların 7' si (%38,9) sigara kullanmazken, 11' i (%61,1) kullanmaktadır.

Tümörlü doku genotipi CT olanların 5' i (%33,3) sigara kullanmazken, 10'u (%66,7) sigara kullanmaktadır. Tümörlü doku genotipi TT olanların 5' i (%71,4) sigara kullanmazken, 2' sinin (%28,6) sigara kullandığı görülmektedir (Tablo 5.13.).

Alkol ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $X^2=0,508$ ;  $p=0,776>0.05$ ). Tümörlü doku genotipi CC olanların 14' ü (%77,8) alkol kullanmazken, 4' ü (%22,2) kullanmakta; tümörlü doku genotipi CT olanların 13' ü (%86,7) kullanmazken, 2' si (%13,3) kullanmakta; tümörlü doku genotipi TT olanların 6' sı (%85,7) kullanmazken, 1' inin (%14,3) kullandığı görülmektedir (Tablo 5.13.).

Aile hikayesi ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $X^2=0,734$ ;  $p=0,693>0.05$ ). Tümörlü doku genotipi CC olanların 12' sin de (%66,7) aile hikayesi yok iken, 6' sının aile hikayesi (%33,3) var; tümörlü doku genotipi CT olanların 12' sin de (%80,0) aile hikayesi yok iken, 3' ün de (%20,0) aile hikayesi var; tümörlü doku genotipi TT olanların 5' in de (%71,4) aile hikayesi yok iken, 2' sin de (%28,6) aile hikayesinin var olduğu görülmektedir (Tablo 5.13.).

Tümör nekrozu ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $X^2=3,375$ ;  $p=0,185>0.05$ ). Tümörlü doku genotipi CC olanların 12' sin de (%63,2) tümör nekrozu yok iken, 7' sin de (%36,8) tümör nekrozu var; tümörlü doku genotipi CT olanların 8' in de (%47,1) tümör nekrozu yok iken, 9' un da (%52,9) tümör nekrozu var; tümörlü doku genotipi TT olanların 2' sin de (%25,0) tümör nekrozu yok iken, 6'sın da (%75,0) tümör nekrozunun var olduğu görülmektedir (Tablo 5.13.)

Hg ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $X^2=2,042$ ;  $p=0,728>0.05$ ). Tümörlü doku genotipi CC olanların 2' si (%13,3) tip I, 5' i (%33,3) tip II, 8' i (%53,3) tip III; tümörlü doku genotipi CT olanların 3' ü (%27,3) tip I, 3' ü (%27,3) tip II, 5' i (%45,5) tip III; tümörlü doku genotipi TT olanların 2' si (%50,0) tip II, 2' sinin (%50,0) tip III olduğu görülmektedir (Tablo 5.13.).

İnvazyon derinliği ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $X^2=10,826$ ;  $p=0,094>0.05$ ).



Tümörlü doku genotipi CC olanların 3'ünün (%15,8) I. derece, 7' sinin (%36,8) II,derece, 9' unun (%47,4) IV. derece; tümörlü doku genotipi CT olanların 3' ünün (%18,8) I. derece, 3' ünün (%18,8) II. derece, 10' unun (%62,5) IV. derece; tümörlü doku genotipi TT olanların 1' inin (%12,5) III. derece, 7' sinin (%87,5) IV. derece olduğu görülmektedir (Tablo 5.13.).

*H. pilori* ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $X^2=0,784$ ;  $p=0,676>0.05$ ). Tümörlü doku genotipi CC olanların 9' u (%69,2) *H. pilori* ile enfekte değilken, 4'ü (%30,8) enfekte; tümörlü doku genotipi CT olanların 9'u (%60,0) enfekte değilken, 6' sı (%40,0) enfekte; tümörlü doku genotipi TT olanların 4' ü (%50,0) enfekte değilken, 4' ünün (%50,0) enfekte olduğu görülmektedir (Tablo 5.13.).

### 5.3.5. Sigaranın Hastalık ile İlişkinin Araştırılması

Hasta ve kontrol grupları sigara içenler ve içmeyenler açısından karşılaştırılmış ve Tablo 5.14.' de hasta ve kontrol gruplarında sigara içmeyenlerde genotip dağılımları ve Tablo 5.15.' de hasta ve kontrol gruplarında sigara içenlerde genotip dağılımları gösterilmiştir.

**Tablo 5.14.** Hasta ve kontrol gruplarında sigara içmeyenlerde genotip dağılımları

		Hasta		Kontrol		P.
		n.	%	n.	%	
Genotip	CC	7	%41,2	12	%50,0	$X^2=2,070$ $p=0,355$
	CT	7	%41,2	11	%45,8	
	TT	3	%17,6	1	%4,2	

**Tablo 5.15.** Hasta ve kontrol gruplarında sigara içenlerde genotip dağılımları

		Hasta		Kontrol		P.
		n.	%	n.	%	
Genotip	CC	9	%39,1	4	%40,0	$X^2=0,949$ $p=0,622$
	CT	12	%52,2	6	%60,0	
	TT	2	%8,7	0	%0,0	

Sigaranın hastalık ile ilişkisi incelenirken normal doku ve kontrol grubu dokularının genotipleri esas alınarak sigara içenler ve içmeyenler ayrı ayrı karşılaştırılmış ve anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $X^2=2,070$ ;  $p=0,355>0.05$ ) (Tablo 5.14.) ( $X^2=0,949$ ;  $p=0,622>0.05$ ) (Tablo 5.15.).

## 6. TARTIŞMA

Tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan evrimsel süreç boyunca genetik çeşitlilik sorumlu tutulmaktadır. Polimorfizm genlerde genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biridir. Genomda çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmakla birlikte (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler bulunmaktadır. Genetik hastalıklar, DNA'daki bir değişiklik sonucunda genin, mRNA ya da protein ürününün niteliğinin veya niceliğinin (bazen her ikisinin) değişmesi sonucu oluşan hastalıklardır. İnsan genom proje çalışmaları ile birlikte tüm genomdaki genlerin ve nükleotit dizilerinin belirlenmesinden sonra, genlerin ifade edilme düzeyleri ve ifade edilen gen ürünlerinin yapı ve işlevindeki farklılıklarını belirleme çalışmaları açısından hız kazanmıştır (Lydia, 2003).

Genetik polimorfizm, toplumda görülme sıklığı % 1'den daha fazla olan ve doğrudan hastalık nedeni olmayan değişiklikler olarak tanımlanmaktadır (Risch, 2000). İnsan genomu SNP, ikili ya da üçlü nükleotit tekrarları ve DNA'da eksilme ya da artmalar olmak üzere farklı tipte polimorfizmler içermektedir. İnsan genom dizilim çalışmaları her insan genomunda DNA'nın % 99,9 benzerlik gösterdiğini kanıtlamıştır (Lander, 2001).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre; Dünyada kansere bağlı olarak ölüm sebepleri arasında akciğer kanseri % 17,8, mide kanseri % 10,4 ve karaciğer kanseri % 8,8 olmak üzere ilk üç sırayı bu kanserler oluşturmaktadır (Stewart ve Kleihues, 2003).

MMP' ler aşırı ifadesi olan tümör gelişimi, ilerlemesi ve metastazı ile bağlantılıdır. Bazı MMP' ler in-sitü tümör ilerlemesi, mikrovasküler invazyon ve metastaz sürecine katılırken bazı MMP' ler genel büyüme ve hücre kitlesinin genişlemesi ile ilişkilidir (Bodey ve diğ., 2001). MMP' ler inflamatuvar yanıt

nedeniyle bağ dokusu onarım ve hata da dahil olmak üzere fizyolojik ve patolojik olaylarda önemli bir rol oynamaktadır (Birkedal- Hansen, 1993; Ingman ve diğ., 1996).

MMP-8, MMP enzim ailesinin bir üyesi olup 11q22.2-q22.3 koluna lokalizedir ve 12 ekzondan oluşmaktadır (Yang ve diğ., 2011). Hücre dışı matris bozulması hücre proliferasyonu, farklılaşması ve anjiyogenezde önemli bir rol oynamaktadır (Galis ve diğ., 1994).

MMP-8 geni polimorfizmleriyle ilgili yapılan çalışmalar sonucunda bazı hastalıklar açısından ilişkili bulunurken bazı hastalıklar açısından ise ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir. Chou ve diğ., (2011) yaptıkları çalışmada MMP-8 geninin -799C>T polimorfizminin periodontitis hastalığı ile sigara içilmeyen Tayvanlı agresif periodontitis hasta ve sağlıklı kontrol için her ikisi içinde bir risk taşıdığını göstermişlerdir. MMP-8 -799 polimorfizminde T aleli varlığı periodontitis riskini artırabilir olduğu söylenmektedir (Chou ve diğ., 2011). Bunun yanı sıra daha önceki çalışmalar MMP genlerinde bazı fonksiyonel polimorfizmlerin periodental hastalık riski ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak hiç bir çalışma bugüne kadar kronik periodontitis ile ilgili olarak MMP-8 gen varyantları araştırılmamıştır. Holla ve diğ., (2012) yaptığı çalışmada mikrobiyal kompozisyon ve kronik periodontitis arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (Holla ve diğ., 2012).

Costa-Junior ve diğ., (2012) yaptığı bir çalışmada sigara içmeyen hastalarda MMP-8 promotör bölgesi polimorfizminin erken implant yetmezliği ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (Costa-Junior ve diğ., 2012).

Dębniaak ve diğ., (2011) yaptığı çalışmada MMP-8 gen rs11225395 (-799C/T) polimorfizminin gelişen malign melanomayla bir ilişkisinin olduğunu göstermişlerdir (Dębniaak ve diğ., 2011).

Godoy-Santos ve diğ., (2012) yaptığı çalışmada ise gen pozisyonu -799 polimorfizminin çalışıldığı popülasyonda tendinopatili birincil arka tibial tendonu ile ilişkili bulunmuştur. T alleli taşıyan bireylerin tendinopati geliştirme açısından daha fazla risk altında olduğu söylenmektedir (Godoy-Santos ve diğ., 2012).

MMP-8 geni polimorfizmlerinin kanser hastalığıyla olan ilişkisinin yapıldığı çalışmalar oldukça az sayıdadır. Daha çok MMP-8 polimorfizmlerinin birlikte bakıldığı çalışmalar ve MMP ailesi üyelerinin birlikte hastalık oluşturma açısından etkisine bakılan çalışmalar mevcuttur. Örneğin; Qiu ve diğ., (2008) yaptığı çalışmada

MMP-7, MMP8 ve MMP-21 polimorfizmlerinin Çin popülasyonunda Karaciğer kanseri ile olan ilişkisinin olmadığını göstermişlerdir (Qiu ve diğ., 2008).

González-Arriaga ve diğ., (2008) yaptığı çalışmada MMP-8 geni içerisinde bulunan +17C/G polimorfizminin akciğer kanserine yakalanma riski ile ilişkisinin olduğu gösterilmiştir (González-Arriaga ve diğ., 2008).

Kim ve diğ., (2011) yaptıkları çalışmada ise MMP7, MMP8 ve MMP9 polimorfizmlerinin mide kanseri oluşumu ve lenf nodu metastazına etkisi incelenmiş ve sonuç olarak bu polimorfizmlerle hastalık arasında ilişki bulunamamıştır (Kim ve diğ., 2011)

MMP'ler ile yapılan bir çok çalışma olmasına rağmen MMP-8 ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça az sayıdadır. Ayrıca mide kanserinde sadece MMP-8 C-799T promotör bölgesi polimorfizmi ile yapılan çalışma ise henüz bulunmamaktadır.

Bu çalışmada ise MMP enzim ailesinin bir üyesi olan MMP-8 geni C-799T polimorfizminin mide kanseri için bir polimorfizm değerlendirildi ve bu polimorfizmin *H.pilori* enfeksiyonu, invazyon derinliği, tümör nekrozu, sigara, alkol ve pozitif aile hikayeleri ile bu polimorfizme yatkınlıkları incelendi.

PZR-RFLP yöntemi ile elde edilen hasta ve kontrol gruplarının genotip dağılımları ve demografik özellikleri istatistiksel analizlerle test edilmiştir. Gözlenen genotip frekanslarından yararlanılarak alel frekansları ve beklenen genotip frekansları hesaplanıp gözlenen ve beklenen değerler ki-kare testi yapılarak karşılaştırılmış ve kullanılan örneklerin Hardy-Weinberg dengesine uygun oldukları görülmüştür (Tablo 5.6.).

Polimorfizm ile hastalık arasındaki ilişkisinin araştırılması için hasta ve kontrol gruplarının alel frekanslarının karşılaştırılması, çapraz tablolar ve ki-kare bağımsızlık testleri uygulanmıştır. Cramer's V tekniği ile yapılan karşılaştırma sonucunda hasta grubu normal doku genotipi ile tümörlü doku genotipi arasında anlamlı uyum bulunmuştur (cramer's V = 0,843; p= 0,000<0.05) (Tablo 5.8.).

Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikler açısından karşılaştırılması Tablo 5.9' da, genotipler açısından karşılaştırılması ise Tablo 5.10' da gösterilmiştir. Hasta grubundaki olgularda erkek olguların oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek (p=0,001<0,05), hasta grubundaki olgularda sigara kullanım oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek (p=0,014<0,05) bulunmuştur. Hasta grubundaki olgularda alkol kullanım oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek

( $p=0,002<0,05$ ), hasta grubundaki olgularda aile hikayesi oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ( $p=0,002<0,05$ ) bulunmuştur (Tablo 5.9.). Kontrol grubunda alkol kullanan birey olmaması, aile hikayesi olmaması ayrıca erkek bireylerin hasta grubunda kontrole göre fazla sayıda olması dolayısı ile hasta grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucu p değerinin anlamlı olması aslında beklenen bir sonuçtu. Fakat sigaranın bu polimorfizm açısından mide kanseri riskine katkıda bulunduğunu bu aşamaya kadar söyleyebiliriz.

Yaş, cinsiyet, sigara gibi çevresel etkenlerin ve genotipin mide kanseri oluşumuna etkisine lojistik regresyon analizi ile birlikte bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 5.11.).

Hasta grubunda normal doku ve tümörlü dokuların demografik ve hastalık özelliklerinin genotip ile ilişkisi ayrı ayrı incelenmiştir (Tablo 5.12 ve Tablo 5.13). Tümör nekrozu ile hasta grubunun normal doku genotipi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ( $\chi^2=5,978$ ;  $p=0,050<0,05$ ) (Tablo 5.12). İnvazyon Derinliği ile normal doku genotipi arasında da anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $\chi^2=13,008$ ;  $p=0,043<0,05$ ) (Tablo 5.12). Ancak diğer demografik ve hastalık özellikleriyle hasta grubuna ait normal doku ve tümörlü doku genotiplerinin anlamlı olmadığı görülmüştür.

Sigaranın hastalık ile ilişkisini incelemek için ise hasta ve kontrol grupları, sigara içenler ve içmeyenler açısından karşılaştırılmış ve Tablo 5.14' de hasta ve kontrol gruplarında sigara içmeyenlerde genotip dağılımları ve Tablo 5.15' de hasta ve kontrol gruplarında sigara içenlerde genotip dağılımları gösterilmiştir. Ancak sigaranın hastalık ile ilişkisi bulunamadığı için sigaranın genotipe bağlı olarak mide kanseri oluşumuna katkıda bulunduğunu söyleyemeyiz. Ancak, örnek sayıları artırılırsa ve kontrol grubuna alkol kullanan ve aile hikayesi olan bireyler dahil edilirse daha kapsamlı ve kesin sonuçlar elde edilebilir.

## 7.KAYNAKLAR

Akay M.T. (2007). Sitoloji. 5. Baskı. Palme Yayıncılık, Ankara, s: 87-89.

Alabalık U. (2011). Helicobacter Pylori Pozitif Ve Negatif Gastritlerde İnflamatuar Hücre Profiline Diğer Morfolojik Parametrelerle Karşılaştırılması. Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Diyarbakır, (Danışman: Prof. Dr. Hüseyin Büyükbayram)

Alberts B, Johnson A, Lewis J. (2002). Molecular Biology Of The Cell.4th Edition. New York: Garland Science.

Allan,J.A., Docherty,A.J., Barker,P.J., Huskisson,N.S., Reynolds,J.J., Murphy,G., (1995) Binding of gelatinases A and B to type-I collagen and other matrix components. *Biochem J* 309 ( Pt 1): 299-306.

Amălinei, C., Căruntu, I.D., Giușcă, S.E., Bălan, R.A., (2010). Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions, *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 51(2):215–228

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.

Benaissa, M., Babin, P., Quellard, N., Pezennec, L., Cenatiempo, Y., and Fauchere, J. L. (1996) Changes in Helicobacter pylori ultrastructure and antigens during conversion from the bacillary to the coccoid form. *Infect Immun*, 64: 2331-2335  
benzanthracene levels in an endemic upper gastrointestinal (oesophageal and gastric)

Berry, V., Jennings, K., and Woodnutt, G. (1995) Bactericidal and morphological effects of amoxicillin on Helicobacter pylori. *Antimicrob Agents Chemother*, 39: 1859-1861.

Birkedal-Hansen H., Moore W, Bodden M.K, Windsor L.J., Birkedal-Hansen B., DeCarlo A., Engler J.A. (1993). Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med.*;4:197-250.

Bodey B, Bodey B Jr., Siegel SE, et al. (2001) Matrix metalloproteinase expression in malignant melanomas: Tumor-extracellular matrix interactions in invasion and metastasis. *In Vivo*;15:57–64.

Bol G.A. (2011) Matriks Metalloproteinaz-2' nin Vasküler Reaktivitede Rolü. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir (Danışman: Doç. Dr. Günay Yetik Anacak, Yrd. Doç. Dr. Gülnur Sevin)

Brew K, Dinakarandian D, Nagase H (2000) Tissue inhibitors of metalloproteinases: Evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 1477:267-283

Brinckerhoff CE, Matrisian LM. (2002) Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol.*; 3:207–14. [PubMed: 11994741]

Buket Reel. (2006) Matrix Metalloproteinaz Enzimleri ve Ateroskleroz. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*; 26(5):527-37.

Carlos, L., Carneiro, J. (2006). Temel Histoloji, Çeviri Editörleri Yener Aytakin ve Seyhun Solakoğlu, 299-308.

Carsten Hagemann, Jelena Anacker, Ralf-Ingo Ernestus, Giles H Vince. (2012) *World J Clin Oncol* May 10; 3(5): 67-79 ISSN 2218-4333

Chandanos E, Lagergren J. (2008). Oestrogen and the enigmatic male predominance of gastric cancer. *Eur J Cancer*. Nov;44(16):2397-2403.

Chou Y-H, Ho Y-P, Lin Y-C, Hu K-F, Yang Y-H, Ho K-Y, Wu Y-M, Hsi E, Tsai C-C, (2011). MMP-8 -799 C>T genetic polymorphism is associated with the susceptibility to chronic and aggressive periodontitis in Taiwanese. *J Clin Periodontol*; 38: 1078–1084. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01798.x.

Chow, A.K., Cena, J., Schulz, R., (2007) Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. *Br J Pharmacol* 152: 189-205.

Christian, T.K., Stadlander, H., Waterbor., J.W. (1999). Molecular epidemiology, pathogenesis and prevention of gastric cancer. *Carcinogenesis*, 20(12);2195-2207.

Corbel M., Boichot E. and Lagente V., (2000). *Role of gelatinases MMP-2 and MMP-9 in tissue remodeling following acute lung injury*, *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 33 749-754.

Correa P. (1992) Human Gastric Carcinogenesis: A multistep and Multifactorial Process – First American Cancer society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Research*, 52:6735–6740

Costa-Junior F. R. , Alvim-Pereira C. C., Alvim-Pereira F., Trevilatto P. C, Souza A. P., Maria Cristina L. G. (2013). *Santos Clin Oral Invest* DOI 10.1007/s00784-012-0699-z

Davis, G.R. (1993). Neoplasm of the stomach. *Gastrointestinal Disease. Gastrointestinal Disease. 5th Ed.*, Philadelphia: WB Saunders Company, 763-782.

Dębniaka T., Jakubowska A., Serrano-Fernández P., Kurzawska G., Cybulska C., Chauhan S.R., Laxton R.C., Maleszka R., Lubinska J., and Yec S. (2011). *Melanoma Research*, 21:464–468

Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. (1995) Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res*;77:863-8.

Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995;77:863-8.

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

Ekmekçi A., Konaç E., İlke Önen H. Gen Polimorfizmi Ve Kansere Yatkınlık marmara Medical Journal 2008;21(3);282-295

Ennis BW, Matrisian LM. (1994). Matrix degrading metalloproteinases. *Journal of Neuro-Oncology*;18:105-9.

Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. (1997) Role of Matrix Metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion.*; 58:520-8.

Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE, Listrom MB, Rilke FO (1999). (eds). *The Neoplastic Stomach*. In: *Gastrointestinal pathology*. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.,p: 237-274.

Folgueras AR, Fueyo A, Garcí'a-Sua' rez O, et al. (2008). Collagenase-2 deficiency or inhibition impair experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *J Biol Chem*. Epub Feb 1.

Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. (1994). Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*: 94: 2493–2503.

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*. June; 25(3): 322–333.

Godoy-Santos<sup>1</sup> A., R. T. Ortiz<sup>1</sup>, R. Mattar Junior<sup>1</sup>, T. D. Fernandes<sup>1</sup>, M. C. L. G. (2012). *Santos Scand J Med Sci Sports* :doi: 10.1111/j.1600-0838.2012.01469.x

González-Arriaga P., López-Cima M.F., Fernández-Somoano A., Pascual T., Marrón M.G., Puente X.S., and Tardón A. *BMC Cancer* 2008, 8:378 doi:10.1186/1471-2407-8-378

Gordon JL, Drummond AH, Galloway WA. (1993) Metalloproteinase inhibitors as therapeutics. *Clinical and Experimental Rheumatology*; 11(Suppl.8):S91-94.

Graham S, Haughey B, Marshall J, et al. (1990). Diet in epidemiology of gastric cancer. *Nutr. Cancer.*, 13:19.



Guyton K. Z., Liu, Y., Gorospe, M., Xu, Q., and Holbrook, N. J. *J. Biol. Chem.*, 271 (1996) 4138–4142.

Hagemann C., Anacker J., Ernestus R.I., Vince G.H. (2012). *World J Clin Oncol* 2012 May 10; 3(5): 67-79

Holla L.I., Hrdlickova B., Vokurka J. Fassmann A. (2012). *Archives of Oral Biology* 57 188 – 196

Hyung W, Noh S, Shin D et al. (2002). Adverse Effect of Perioperative Transfusion on Patients With Stage III and IV Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol*, 9:5-12.

Ii 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* 231:20-7

Ingman, T., Tervahartiala, T., Ding, Y., Tschesche, H., Haerian, A., Kinane, D. F., Sorsa, T. (1996). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *Journal of clinical periodontology*, 23(12), 1127-1132.

Jacob MP. (2003) Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomed Pharmacother*;57: 195-202.

Ji Hye Kim, Jung-A Pyun, Kwang Jae Lee<sup>1</sup>, Sung Won Cho<sup>1</sup> and Kyu Bum Kwack  
*Korean J Gastroenterol*, Vol. 58 No. 5, November 2011

Jones, C.B., Sane, D.C., Herrington, D.M., (2003) Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovasc Res* 59: 812-823.

Junquera, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. (1993). *Basic Histology* (7 th ed) Ed Aytikin, Y., Barış Kitapevi, İstanbul, ss 346-356

Keighley MRB, Youngs D, Poxon V, et al. (1984). Intragastric N-nitrosation is unlikely to be responsible for gastric cancer developing after operations for duodenal ulcer. *Gut*, 25: 238-45.

Kelley, J.R., Duggan, J.M. (2003). Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol*. 56: 1-9.

Kim, Y., Seo, H., and Kim, H. (2010) Beta-karoten and Lutein Inhibit Hydrogen peroxide-induced activation of NF-κB and IL-8 expression in Gastric epithelial AGS cells *J Nutr Sci Vitaminol*, 57, 216-223, 2011

Kuzuya, M., Iguchi, A., (2003) Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb* 10: 275-282.

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

Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.*; 409: 860-921.

Lauren R. (1965) The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal type carcinoma: An attempt at a histoclinical classification. *Açta Pathol Microbiol Scand*; 64:31-49.

Lauren T. (1965) The two histologic main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand*; 64: 31-49.

Leeman MF, Curran S, Murray GI (2002). The structure, regulation, and function of human matrix metalloproteinase-13. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 37:149-166

Libby P, Lee RT. (2000). Matrix matters. *Circulation*;102: 1874-6.

Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J.( 1999 ).

López-Otín C., Lavanya H. Palavalli, and Yardena Samuels (2009). *Cell Cycle*. November 15; 8(22): 3657–3662.

Lydia E. Wroblewski<sup>1</sup>, P.-J. M. Noble<sup>1</sup>, Adelina Pagliocca, D. Mark Pritchard, C. Anthony Hart, Fiona Campbell, Andrew R. Dodson, Graham J. Dockray<sup>1</sup> and Andrea Varro<sup>1</sup>. (2003). Stimulation of MMP-7 (matrilysin) by *Helicobacter pylori* in human gastric epithelial cells: role in epithelial cell migration. *Journal of Cell Science* March.; 116: 3017-3026.

Malkoç D. (2011) Mide Kanserli Hastaların Klinik Verilerinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, (Danışman: Doç. Dr. Hüseyin Engin)

Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. (1998). Matrix metalloproteinases: Structures, evolution, and diversification. *FASEB J*;12:1075-95.

McCawley LJ, Li S, Benavidez M, Halbleib J, Wattenberg EV, Hudson LG. (2000) Elevation of intracellular cAMP inhibits growth factor-mediated matrix metalloproteinase-9 induction and keratinocyte migration. *Mol Pharmacol*; 58:145-51.

McColl, KEL (2006). Cancer of the gastric cardia. *Best Practice Research Clinical Gastroenterol*;20(4):687-696.

Michael S. Pepper. (2001). Role of the matrix metalloproteinase and plasminogen activator- Plasmin systems in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 21:1104 -1117 *Molecular Cell Biology*. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company; p.968-93.

Muphy G, Willenbrock F, Crabbe T. (1994) Regulation Of Matrix Metalloproteinases Activity. *Ann Ny . Acad Sci*;732:31-41

Murphy G, Stanton H, Cowell S, Butler G, Knauper V, Atkinson S, Gavrilovic J. (1999) Mechanisms for pro matrix metalloproteinase activation. *APMIS* 107:38-44  
Nagase H, Fields GB. (1996) Human matrix metalloproteinase specificity studies using collagen sequence-based synthetic peptides. *Biopolymers (Peptid science)*; vol. 40,399-416.

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

Nagase,H., Visse,R., Murphy,G., (2006) Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 69: 562-573.

Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. (2000) Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol.*; 18: 1135–1149.

Oiwa H, Maehara Y, Ohno S, et al. (1995). Growth pattern and p53 overexpression in patients with early gastric cancer. *Cancer*;75 (Suppl.):1454-1459.

Owen CA, Hu Z, Lopez-Otin C, Shapiro SD. (2004). Membrane- bound matrix metalloproteinase-8 on activated polymorphonuclear cells is a potent, tissue inhibitor of metalloproteinase-resistant collagenase and serpinase. *J Immunol*;172:7791–803.

Özer K. (2008). Mide Kanseri Olgularında Ameliyat Sonrası Sağkalıma Etki Eden Prognostik Faktörlerin Analizi. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi III.Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof.Dr.Mehmet Mihmanlı)

Patricia González-Arriaga<sup>1</sup>, M Felicitas López-Cima<sup>1</sup>, Ana Fernández- Somoano<sup>1</sup>, Teresa Pascual<sup>2</sup>, Manuel G Marrón<sup>2</sup>, Xose S Puente<sup>3</sup> and Adonina Tardón (2008) *BMC Cancer*, 8:378

Pećina-Šlaus, N. (2003). Tumor suppressor gene E-cadherin and its role in normal and malignant cells *Cancer Cell Int.*; 3: 17.

Prior RL., Cao G.. (1999). *In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods*, *Free Radic. Biol. Med.*, 27 1173–1181.

Qiu JL, Chen K, Wang XB, Wang JY, Zhang LJ, Shui LM. (2004) A case-control study on the relationship between nutrition and gastric cancer in islanders; *Jun*; 25(6):487-91.

Reel B. (2006). Matriks Metalloproteinaz Enzimleri Ve Ateroskleroz: Derleme. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*;26:527-537.

Risch NJ. (2000). Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*; 405: 847-856.

Rosano L, Salani D, Di Castro V, Spinella F, Natali PG, Bagnato A. (2002) Endothelin-1 promotes proteolytic activity of ovarian carcinoma. *Clin Sci*;103(Suppl 48): 306-9.

Rosia J. (2004) ( Ed.) Mosby, Ackerman's Surgical Pathology, 9th New York, pp:616 -620.

Roy, R., Yang, J., Moses, M.A., (2009). Matrix Metalloproteinases As Novel Biomarkers and Potential Therapeutic Targets in Human Cancer, *JCO*,; 27(31) 5287-5297

Sanchez BF, Coarcia MJ, Perez FD. (1998). Prognostic factors in a series of 297 patients with gastric adenocarcinoma undergoing surgical resection. *Br J Surg*, 85:255-60

Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NHV.(2000). Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol*; 84:654-64.

Shimazu T, Tsuji I, Inoue M, Wakai K, Nagata C, Mizoue T, Tanaka K, Tsugane S (2008). Research Group for the Development and Evaluation of Cancer Prevention Strategies in Japan. Alcohol drinking and gastric cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Jpn J Clin Oncol*. Jan;38(1):8-25.

Spinale FG. (2007) Myocardial Matrix Remodeling And The Matrix Metalloproteinases: Influence On Cardiac Form And Function. *Physiol Rev*; 87:1285–1342

Stamenkovic I. (2000). Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *Semin Cancer Biol*;10:415–33.

Stewart BW, Kleihues P. (2003) (Eds): *World Cancer Report*. Lyon: IARC Press, p.12.

Suerbaum S and Michetti P. (2002). Helicobacter pylori infections. *New Engl J M*, 347:1175– 1186.

Şahin O. (2009). Erken Mide Kanserlerinin Retrospektif Olarak Gözden Geçirilmesi. Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim Hastanesi IV. Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Doc. Dr. Yavuz Selim Sarı, Op. Dr. Oğuz Koç)

Tadeusz De, bniaka, Anna Jakubowskaa, Pablo Serrano-Ferna'ndeza, Grzegorz Kurzawska, Cezary Cybulskia, Saleena Rani Chauhanc, Ross C. Laxtonc, Romuald Maleszkab, Jan Lubinskia and Shu Yec (2011) *Melanoma Research*, 21:464–468

Tahara, E. (2005). Growth factors and oncogenes in gastrointestinal cancers: Genetic and epigenetic alterations and abnormal growth factor, cytokine network in gastric cancer. *Mol. Cell Bio. And M. Medicine*, 2nd ed. Vol 6 . Edited by Robert A. Meyers., Wiley-VCH Verlag GmbH&Co-KGAA, Weinheim

Tahara, E., Yokozaki, H., Yasui, W. (1999). Stomach-Genetic and Epigenetic Alterations of preneoplastic and neoplastic Lesions, in: Srivastava, S. Henson, D.E.

Gazdar, A.(Eds.) . Molecular Pathology of early cancer, IOS Pres, Amsterdam, Netherlands, , pp: 341-361

Tokieda M, Honda S, Fujioka T, et al. (1999). Effect of *Helicobacter pylori* infection on the N-methyl- N'-nitro-N- nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis in Mongolian gerbils. *Carcinogenesis*; 20:1261-1266.

Türkdoğan KM, Dağoglu G, Akman N, et al. (2003). Dietary benzo(a)pyrene and 1, 2- cancer region of Turkey. *J Nutr Environ Med.* , 13:103–108

Tüzün Y, Güler MA, Oğuz O, Aksungur VL. (2008) *Dermatoloji Cilt 1 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri,İstanbul*

van Amsterdam K, van Vliet AH, Kusters JG, van der Ende A. (2006). Of microbe and man: determinants of *Helicobacter pylori*-related diseases. *FEMS Microbiol Rev*; 30:131–56.

Verspaget-Hein W. (1998) Proteases as prognostic markers in cancer. *BMJ.* 316:790-794.

Vihinen P., Kahari,V.M., (2002) Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and therapeutic targets. *Int J Cancer* 99: 157-166.

Visse,R., Nagase,H., (2003) Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 92: 827-839.

Wang H, Parry S, Macones G, et al. (2004) Functionally significant SNP MMP8 promoter haplotypes and preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Hum Mol Genet*;13:2659 – 69.

Warren JR., Marshall BJ., (1983). *Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis*, *Lancet*, 1 1273–1278.

Wei Qiu, Gangqiao Zhou, Yun Zhai, et al. (2008). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 17:2514-2518. Published online September 2, 2008.

Whisler R. L, M. A Goyette, I. S. Grants, and Newhouse, Y. G. *Arch.Biochem. Biophys.*, 319 (1995) 23–35.

Wiesen JF, Werb Z. (1996) The role of stromelysin-1 in stromal-epithelial interactions and cancer. *Enzyme Protein* 49:174-181

Woessner,J.F., Jr., (1998) Role of matrix proteases in processing enamel proteins. *Connect Tissue Res* 39: 69-73.

Wu A. H., Bu-Tian Ji,1 Wong-Ho Chow, Gong Yang, Fan Jin, Yu-Tang Gao, and Joseph F. Fraumeni, Jr. (2000). A Meta-Analysis of Soyfoods and Risk of Stomach Cancer: The Problem of Potential Confounders. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 9: 1051–1058.

Yamaji Y, Watabe H, Yoshida H, Kawabe T, Wada R, Mitsushima T, Omat a M. (2009). High-risk population for gastric cancer development based on serum pepsinogen st atus and lifestyle factors. *Helicobacter*. Apr;14(2):81-86.

Yang-Feng T, Berliner N, Deverajan P, Johnston J.(1991). Assignment of two human neutrophil secondary granule protein genes, transcobalamin I and neutrophil collagenase to chromosome 11. *Cytogenet Cell Genet*;58:1974.

Yolçun E. (2011). Mide Kanserinde Mmp-7 Geni -181 A/G Tek Nükleotid Polimorfizminin Ve Helikobakter Pylori Enfeksiyonunun Prognostik Önemi. Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. Salim Demirci)

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

Zempo N, Koyama N, Kenagy RD, Lea HJ, Clowes AW. (1996). Regulation of vascular smooth muscle cell migration and proliferation in vitro and in injured rat arteries by a synthetic matrix metalloproteinase inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*;16:28-33.

## **8.ÖZGEÇMİŞ**

Burcu Gürbüz, 1988 yılında Adıyaman' da doğdu. 2005 yılında Adıyaman Özel Merkez Lisesi' nden mezun olduktan sonra 2007 yılında Akdeniz Üniversitesi Biyoloji Bölümü' nde başladığı yüksek öğrenimini 2011 yılında tamamladı.

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