



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ (MTHFR) ve TİMİDİLAT SENTETAZ (TS) GEN POLİMORFİZMLERİNİN MİDE KANSERİ İLE İLİŞKİSİ

İNCİLAY ÇELİK SÜMEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ
Anabilim Dalı

KASIM-2011
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İNCİLAY ÇELİK SÜMEN
101.2012

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ(MTHFR) ve TİMİDİLAT SENTETAZ (TS) GEN POLİMORFİZMLERİNİN MİDE KANSERİ İLE İLİŞKİSİ

İNCİLAY ÇELİK SÜMEN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Emine ARSLAN
Yrd. Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hilal ARIKOĞLU

2011, 42 Sayfa

Jüri
Danışman: Doç. Dr. Emine ARSLAN
Doç. Dr. Özlem ATA
Yrdm. Doç. Dr. Rüstem DUMAN

Bu çalışmada Konya bölgesinde mide kanseri tanısı konmuş hastalarda Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) C677T ve Timidilat Sentetaz (TS) tekrar dizi polimofizmlerinin ve serum folat seviyesinin hastalıkla ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Onkoloji Bölümünde mide kanseri teşhisi konulmuş 38 hasta ve sağlıklı 48 birey çalışmaya alınmıştır. MTHFR ve TS gen polimorfizmleri sırasıyla PZR RFLP ve PZR agaroz jel elektrorez yöntemleri ile analiz edilmiştir.

Çalışmada folat metabolizmasında anahtar rol oynayan MTHFR ve TS enzimlerini kodlayan gen lerdeki polimorfizmlerin ve bu değişimlerin fenotipik bir göstergesi olarak serumdaki folat seviyesinin mide kanseri üzerine etkisi araştırılmıştır. MTHFR geni pozisyon 677'de gözlenen C/C, C/T ve T/T genotipleri ile mide kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$). TS geninin 5'UTR bölgesindeki ardışık (28 baz çiftlik) baz tekrar polimorfizmi sonucu görülen 2R/3R ve 3R/3R genotiplerinin mide kanseri ile ilişkili olduğu ve 3R allelinin risk alleli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Serumdaki folat miktarının ise kontrol grubuna kıyasla hastalarda daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca mide kanserinin yaş ve cinsiyet ile herhangi bir ilişkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Bu çalışma, TS polimorfizminin folat metabolizması ve mide kanserinin gelişiminde önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Mide kanseri, Polimorfizm, Metilentetrahidrofolat Redüktaz, Timidilat Sentetaz.

ABSTRACT

MS THESIS

THE ASSOCIATION OF GASTRIC CANCER AND METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR) AND THYMIDYLATE SYNTHASE (TS) GENE POLYMORPHİSM

İncilay ÇELİK SÜMEN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BİOLOGY

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Emine ARSLAN
Assoc Advisor: Asist. Prof. Dr. Hilal ARIKOĞLU
2011, 42 Pages

Jury
Advisor Assoc. Prof. Dr. Emine ARSLAN
Assoc. Prof. Dr. Özlem ATA
Asist. Prof. Dr. Rüstem DUMAN

In this study carried on the patients diagnosed with stomach cancer in Konya, it was aimed to determine the relationship between repeat sequence polymorphisms of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T and Thymidylate Synthase (TS) and serum folate levels of the patients and the disease. The study included 38 patients diagnosed with stomach cancer at Selcuk University Faculty of Medicine, Oncology Department and 48 healthy individuals. MTHFR and TS gene polymorphisms were analyzed by PZR RFLP and PZR agarose gel electrophoresis methods, respectively.

In the study, the effects of polymorphisms in the gene regions encoding MTHFR and TS enzymes that play a key role in folate metabolism and folate levels in serum as a phenotypic indicator of the changes in this metabolism were investigated. The relationship of C/C, C/T and T/T genotypes observed in the MTHFR gene position 677 with stomach cancer was not statistically significant ($p>0.05$). It was found out that 2R/3R and 3R/3R genotypes as a result of sequential (28 base pair) base repeat polymorphism in 5'UTR region of TS gene were associated with stomach cancer and 3R allele was the risk allele ($p<0.05$). And the amount of folate in serum was determined to be higher in patients compared to the control group. In addition it was determined that stomach cancer is not associated with age and gender.

This study shows that TS polymorphism can play an important role in the development of folate metabolism and stomach cancer.

Keywords: Gastric cancer, Polymorphism, Methylentetrahydrofolate reductase, Thymidylate synthase

ÖNSÖZ

Çalışmalarım süresince benden bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli danışman hocalarım Doç. Dr. Emine ARSLAN ve Yrd. Doç. Dr. Hilal ARIKOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca numune temin etmemizi sağlayan, bilgi ve deneyimlerini bizden esirgemeyen Selçuklu Tıp Fakültesi Onkoloji Bölüm başkanı sayın hocam Doç. Dr. Özlem ATA'ya, biyokimyasal testlerde bize yardımcı olan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Aysel KIYICI'ya, istatiksel değerlendirmede bilgi ve tecrübelerinden yararlandığımız sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Seyid Ali KAYIŞ'a, tez şekillerinin düzenlenmesinde bana yardımcı olan sayın hocam Doç. Dr. Atilla ARSLAN'a, şükranlarımı sunarım. Başta Elif GÜLBAHÇE MUTLU olmak üzere bana yardım ve destekte bulunan tüm çalışma arkadaşlarıma, tüm Onkoloji Polikliniği çalışanlarına, bugüne kadar benden maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen değerli ailem, annem Nazik ÇELİK, babam Mustafa ÇELİK'e ve sevgili eşim Aydın SÜMEN'e teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca çalışmamı 11201006 nolu proje ile destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (BAP) teşekkürlerimi sunarım.

İNCİLAY ÇELİK SÜMEN

KONYA-2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **4**

2.1 Kanserin moleküler genetiği ve genetik etki 5
2.2.Mide kanserinde beslenme, sigara ve alkol kullanımı ve mide kanserine yol açan faktörler 5
2.2.1 Mide kanserinin klinik belirtileri 6
2.2.2. Mide kanserinin tanısı 7
2.2.3. Mide kanserinde tedavi 7
2.2.4. Hastalıktan korunma 8
2.2.5. Mide kanserinde cinsiyet 8
2.3.Folat Metabolizması 8
2.3.1. Alkol, sigara kullanımı ve folat statüsü 10
2.3.2. Folat metabolizmasının anormal DNA metilasyonu üzerindeki rolü 10
2.3.3 Folik asit ve karsinogenez 11
2.4 Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Enziminin Yapısı ve Görevi 11
2.4.1.Metilentetrahidrofolat redüktaz geni 12
2.4.2. C677T polimorfizmi 13
2.5. Timidilat Sentetaz enzimi 13
2.5.1. Timidilat Sentetaz Geni 14
2.5.2. Timidilat sentetaz genindeki polimorfizmler 14

3. MATERYAL VE YÖNTEM **18**

3.1. Materyal 18
3.2. Yöntem 18
3.2.1 DNA izolasyonu 18
3.2.2. MTHFR gen bölgesinin analizi 19
3.2.2.1. Primer özellikleri 19
3.2.2.2 .PZR karışımının hazırlanması ve programlanması 19
3.2.2.3. RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm) analizi 20
3.2.2.4. Jel elektroforezi ve görüntüleme 20
3.2.3. TS gen bölgesinin analizi 211
3.2.3.1. Primer özellikleri 211
3.2.3.2. PZR karışımın hazırlanması ve proğramlanması 21
3.2.3.3. Agaroz Jel elektroforezi 21
3.2.4. Serumdaki folat miktarının tayini 22

3.2.5. İstatiksel analiz 22

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 23

4.1. Genotipleme analizleri 23
4.1.1. MTHFR gen bölgesi PZR sonuçları 23
4.1.2. MTHFR gen bölgesi için RFLP sonuçları....25
4.1.3. TS gen bölgesi için agaroz jel elektroforez sonuçları....27
4.2. İstatiksel sonuçlar 28
4.2.1. Çalışmaya katılan bireylerin klinik özellikleri 28
4.2.2. İlişki (asosiyasyon) çalışması 28
4.2.2.1. MTHFR gen bölgesindeki C677T polimorfizminin mide kanseri ile ilişkilendirilmesi 28
4.2.2.2. TS gen bölgesi tekrar dizii polimorfizminin mide kanseri ile ilişkilendirilmesi 28
4.2.3. Genotip fenotip ilişkisi 29

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 32

5.1 Sonuçlar 32
5.2 Öneriler 32

KAYNAKLAR 34

ÖZGEÇMİŞ....42

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALA	: Alanin
C	: Sitozin
DHF	: Dihidrofolat
dTMP	: Deoksitimidin monofosfat
dUMP	: Deoksiüridin monofosfat
EDTA	: Etilen diamin tetra asetat
FU	: Florourasil
Gİ	: Gastrointestinal kanser
HCl	: Hidroklorik asit
HWE	: Hardy-Weinberg Equilibrium
KCl	: Potasyum klorür
$MgCl_2$	: Magnezyum klorür
MS	: Methiyonin sentaz
MTHF	: Metilen tetrahidrofolat
MTHFR	: Metilen tetrahidrofolat redüktaz
MTR	: Metiyonin sentaz
NaCl	: Sodyum klorür
OR	: Odds oranı
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon fragment uzunluk (Length) polimorfizm
SAM	: S-adenozil L-metiyonin
SDS	: Sodyum dodesilsülfat
SNP	: Single nükleotit polimorfizm (tek nükleotit değişikliği)
T	: Timin
TAE	: Tris Asetik Asit EDTA
THF	: Tetrahidrofolat
TS	: Timidilat sentetaz
TSER	: Timidilat sentetaz enhansır bölgesi
UV	: Ultraviyole
VAL	: Valin

1. GİRİŞ

Kanser tüm dünyada ölümlerin en sık nedenidir. Dünya sağlık örgütünün 2007 verilerine göre tüm dünyada 7.9 milyon kişi kanser nedeni ile hayatını kaybetmiştir. Bu rakam tüm ölümlerin yaklaşık %13'ünü oluşturmaktadır. Dünya sağlık örgütünün tahminine göre 2030 yılında kanserden ölecek hasta sayısı 12 milyon olacaktır. Kanser, çevresel faktörlerin genetik faktörlerle etkileşimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Kanserin genetik temelinin anlaşılması tanıda, hastalık sürecinin takibinde ve gelişmesinde önemli rol oynayacaktır (Şen, 2011).

Mide kanseri; malign tümörler içerisinde dördüncü sırada gelmektedir. Mide tümörlerinin çoğu kötü huyludur ve olguların yaklaşık %90-95'ini adenokarsinomlar oluşturur. %5'lik kısmını lenfomalar, karsinoidler, leimyoma, liposarkomlar, leimyosarkomalar, lipomlar ve midenin metastatik tümörleri oluşturmaktadır. Gastrik adenokarsinom gelişimindeki risk faktörleri diğer kanserlerde olduğu gibi çevresel ve genetik faktörler olarak ayrılabilir (Göksel ve ark., 1998).

Mide kanserinin dünya üzerindeki dağılımı coğrafi farklılıklar göstermektedir. Japonya ve Çin'de cinsiyetten bağımsız olarak en sık görülen kanser türüdür. Mevcut en son tahminlere göre mide kanseri dünya genelinde en yaygın dördüncü kanser türüdür ve yılda 934000 yeni vaka ortaya çıkmaktadır (Parkin ve ark., 2002; Plummer ve ark., 2004). ABD'de sıklığı 10/100000 seviyesinin altındadır (Plummer ve ark., 2004). Mide adenokarsinomu 1980'lerin ortalarına kadar dünyada en fazla görülen kanser türüydü. Günümüzdeki yıllık insidansı yılda 20.000 yeni olgudan azdır. Yaşa göre düzeltilmiş mortalite oranları 1973-1985 arasında %25 azalmıştır (Plummer ve ark., 2004; Jemal ve ark., 2008). Dünya çapında mide kanserinin görülme sıklığı doğuya gittikçe artmaktadır. Japonya gibi yüksek riskli bölgelerden Brezilya gibi düşük riskli bölgelere göç edenlerde kanser riskinin azalması bu görüşü desteklemektedir (Crew ve Neugut, 2006). Ülkemizde gastrointestinal kanserler içinde en sık görülen kanserdir Karadeniz bölgesinde diğer bölgelere göre biraz daha fazladır. (Demirer ve ark., 1990). Mide kanserleri tipik olarak 50-70 yaş arasında görülür ve 30 yaşından önce çok nadirdir. Erkeklerde görülme olasılığı iki kat yüksektir (Yalçin, 2009). 5 yıllık sağ kalım oranı %20'nin altındadır.

Mide karsinogenezi genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu, çok basamaklı ve oldukça karmaşık bir süreçtir (Gianfagna ve ark., 2008). *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, sigara içilmesi, düşük meyve ve sebze tüketimi ve gıda soğutma eksikliği

genetik olmayan belirleyicilerdir (Correa ve Schneider, 2005). Öte yandan genetik olarak mide kanseri için pozitif aile öyküsü olan kişiler, mide kanserine yakalanmada en yüksek riski içermektedir (Zagari ve Bazzoli, 2004). Epidemiyolojik çalışmalarda meyve ve sebzelerin önemli bir bileşeni olan, düşük folat miktarının mide kanseri riski içerdiği ileri sürülmüştür (Bailey ve ark., 2001; Zhu ve ark., 2003; Sanjoaquin ve ark., 2005) ve folat yetersizliğinin anormal DNA metillenmesine ve kontrolsüz gen ekspresyonuna neden olabildiği belirtilmiştir (Choi ve Mason, 2000; Fenech, 2001). Bununla birlikte son on yıldır, folat metabolizmasının genetik kontrol altında olduğu ve folat metabolizması genlerindeki yaygın polimorfizmlerin folat durumu ve dağılımında büyük etki yaptığı bilinmektedir (Götze ve ark., 2007).

Folik asit suda çözünen vitamin B9'un bir formudur. DNA metilasyonunu sağlayan metabolik yolda ve gen ekspresyonunu düzenleyici mekanizmada öncül maddedir. Folat, timidilat ve purin bölgesinde metil grubu vericisi olarak görev yapmaktadır. Ayrıca DNA ve RNA sentezi sırasında metillenmede tek karbon verici olarak görev yaptığı bilinmektedir. Alkol, sigara alışkanlığı gibi alışkanlıkların MTHFR ve TS gibi enzimlerin aktivitesini bozduğu ileri sürülmüştür (Bailey, 1990; Harrison ve ark., 1997).

Folat metabolizmasında iş gören çok sayıda gen vardır. Bunlardan MTHFR ve TS folat metabolizmasında temel DNA metillenmesi ve sentezinde görev yapan anahtar enzimleri kodlayan polimorfik yapıdaki genlerdir. (Wang ve ark., 2005).

MTHFR enzimi hücre içi 5,10 metilentetrafolat'ın 5, metilentetrafolata indirgenmesini katalizleyerek DNA metillenmesinde anahtar rol oynar. MTFHR genindeki yaygın polimorfizm C677T'nin TT homozigot genotipinin plazmada folat seviyesini düşürdüğü rapor edilmiştir (Weisberg ve ark., 1998; Nelen ve ark., 1998).

Nükleotid sentezinde 5,10 MTHFR akting kofaktör tarafından katalizlenen deoksiüridin monofosfat (dUMP) metillenmesinde TS'nin anahtar bir enzim olduğu belirtilmiştir. Bu fonksiyonun sadece hücre içi timidilat kaynağı olarak değil, DNA replikasyon ve tamir sisteminde de çok önemli olduğu bilinmektedir (Mandola ve ark., 2003). TS'de çoğunlukla meydana gelen polimorfizmler, TS geninin ekspresyonunu düzenleyen enhansır bölgelerinde ikili tekrar dizileri ya da üçlü tekrar dizileri olarak görülmektedir. Bu tekrar dizilerinde polimorfizm bakımından üç çeşit genotipi belirlenmiştir: 2R/2R (yabanil tip), 2R/3R (heterozigot mutant), 3R/3R (homozigot mutant) (Kawakami ve ark., 2001). TS gen polimorfizminin, orantısız dUMP/dTMP sonuçlarına ve dolayısıyla hücre içi düşük folik asit miktarına neden olduğu rapor

edilmiştir. Bu durum DNA replikasyonunda hataya sebebiyet verdiği için kansere yatkınlıkla ilişkilendirilmiştir (Trinh ve ark., 2002).

Bu çalışmada folat metabolizmasında görevli Metilentetrafolat Redüktaz (MTHFR), Timidilat Sentetaz (TS) gen polimorfizmlerinin ve serumdaki folat seviyesinin mide kanseri ile ilişkisi araştırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kanser, günümüzde ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Asya ülkeleri ve Batı ülkeleri arasında farklılıklar olsa da mide kanseri dünya çapındaki ölümlerin önemli bir nedenidir (Jung ve ark., 2010). Mide kanseri dünyadaki kanser ölümlerinde erkeklerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada, kadınlarda meme ve akciğer kanserinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Verdecchia ve ark., 2004).

Mide tümörlerinin çoğunu adenokarsinomalar oluşturur (Crew ve Neugut, 2004). Gastrik adenokarsinomalar intestinal ve diffuz olmak üzere iki tipe ayrılır. İntestinal tip ülserasyonlarla mide distaline yerleşir, genellikle öncesinde premalign oluşumlar vardır. İntestinal tip kanser, çevresel ve diyetsel faktörlerle belirgin şekilde ilişkilidir. Mide kanseri yönünden yüksek riskli bölgelerde görülen başlıca mide kanseri türü olup, progresif multifokal atrofik gastrit ve intestinal metaplazi süreçlerinden geçerek ortaya çıkmaktadır. Yaşlı bireylerde ve sosyo-ekonomik düzeyi düşük populasyonda daha sıklıkla görülür. Erkek/kadın oranı 2/1 olup, görülme sıklığı 50'li yaşlarda doruğa ulaşmaktadır. Diffuz tip ise özellikle kardiya bölgesinde mide duvarında kalınlaşmaya yol açar, intestinal tipin aksine midenin proksimalinde yerleşme eğilimi göstermektedir ve daha genç insanlarda görülür, yaş ortalaması 48 olarak tanımlanmıştır (Fuchs ve Mayer, 1995; De Varies ve ark., 2009). Duvarın tamamının tümör tarafından tutulması sonucu mide hareketleri ortadan kalkar ve lümen daralır (linitis plastika) (Crew ve Neugut, 2004). Diffuz tipin prognozu genellikle daha kötüdür. Dünyanın her yerinde aynı sıklıkta bulunup, çevresel faktörlerden belirgin bir etkilenme gözlenmeyen bu kanser sıklıkla aile içi bir dağılım göstermektedir (Ji ve Hemminki, 2006). Kadınlarla, erkekler arasında bu tip kansere yakalanma oranı birbirine yakın olup kadınlarda biraz daha sık görülmektedir (Kelley ve Duggan, 2003). Non-metaplazik mide mukozasında gelişen displazinin diffuz tip kanser için öncü lezyon olabileceği ileri sürülmüş olmakla birlikte, bu tip kanserde tanımlanmış bir öncü lezyonun bulunmadığı düşünülmektedir (Fuchs ve Mayer, 1995). Yüksek riskli populasyonlarda intestinal tipin insidansi diffuz tipten daha fazla olmakla birlikte, düşük riskli bölgelerde her iki tip kanserin insidansları birbirine yakındır (Canzian ve ark., 2008).

2.1 Kanserin moleküler genetiği ve genetik etki

Kanser, bir başka tanımla normal hücrelerin malign dönüşüme uğraması, uzun bir süreç içinde genetik materyalin mutasyonlar etkisi ile hasara uğraması sonucu oluşmaktadır.

Malign dönüşüme yol açan bu mutasyonlar etkiledikleri hücresel mekanizmalara göre şöyle sınıflanabilir;

- Büyüme ve hücre çoğalmasını teşvik eden proto-onkogenlerin aktivasyonu
- Hücre çoğalmasını denetleyen tümör baskılayıcı genlerin inaktive olması
- Programlanmış hücre ölümünün (apoptozisin) engellenmesi
- DNA onarım enzimlerinin inaktivasyonu

Karsinogenezis, bu yaşamsal hücresel yönetim ve denetim mekanizmalarının birer birer devre dışı kalması sonucu kontrolsüz hücre çoğalması, çevre dokuların invazyonu ve uzak organlara metastaz sürecini kapsar (Demirelli, 2003).

Mide adenokarsinomunda genetik etki ve genetik geçiş tanımlanmıştır. Erken evrede genetik kararsızlık önemli rol oynar. Birinci derece akrabalarında mide kanseri olanlar üç kat daha fazla risk altındadır (Goldgar ve ark., 1994; Guilford ve ark., 1999)

2.2.Mide kanserinde beslenme, sigara ve alkol kullanımı ve mide kanserine yol açan faktörler

Beslenme ile mide kanseri arasında doğrudan ve önemli bir ilişki vardır. Mide kanserlerinin aşırı tuzlu beslenme ile ilişkili olduğu ve taze sebze, meyve ile beslenmenin de koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Correa, 2004; Vainio ve Weiderpass, 2006). Bol sebze ve meyve ile beslenenlerde kanserin gelişme oranı düşmekte buna karşın taze sebze ve meyveden fakir beslenenlerde ise mide kanser oranının yüksek olduğu bildirilmektedir (Zhu ve ark., 2003; Rozen, 2004). Gıdalarla alınan nitrat ve nitritlerin midede intestinal metaplaziye yol açarak mide kanseri oluşturdukları deneysel olarak gösterilmiştir. Alkol, sigara, diyetle alınan aşırı tuz, helikobakter infeksiyonu, nitrit ve nitratlar (sucuk, sosis, turşu, salamura, beklemiş gıdalarda boldur), A, C, E vitaminleri ve selenyum eksiklikleri, midede mevcut olan gastritin kronikleşmesine, daha sonra atrofik gastrite, displazi ve intestinal metaplaziye yol açabilir (Huang ve ark., 2000). Gıdalarla bu zararlı maddelerin alınımının önlenmesi, özellikle yüksek riskli bölgelerde önleyici bir tedbir olabilir (Vainio ve

Weiderpass, 2006). Sigara içimi ile ilgili veriler çelişkilidir. Bir kısım araştırmacılar sigaranın mide kanserini arttırdığını ve bunun doza bağlı olduğunu, bir kısım araştırmacılar ise doza bağlı olmadığını belirtirken bazı araştırmacılar da sigara ile mide kanseri arasında ilişki olmadığını belirtmektedirler (Tredaniel ve Boffetta, 1997).

Mide içindeki adenomlar (mantar şeklindeki oluşumlar), atrofik gastrit (gastritin ileri aşaması), polipler, kronik mide ülserleri, pernisiyöz anemi (B12 vitamini ve folik asit eksikliği sonucu oluşan anemi), bağırsak hücrelerinin midede bulunması (intestinal metaplazi), yanlış beslenme (tuzlu, tütsülenmiş, dondurulmuş yiyeceklerin yanı sıra ızgarada pişirilmek suretiyle kömürleşen etleri tüketmeyi beslenme alışkanlığı haline getirmek), A, C ve E vitamini eksikliği, daha önce bir mide ameliyatı geçirilmesi, A grubu kana sahip olmak, genetik geçiş, Helikobakter bulunan kişiler, radyasyon, aflatoksin, bazı virüsler ve sosyo-ekonomik yaşam mide kanserine yol açan diğer önemli faktörlerdir (Göçmen ve Akgül, 2000).

2.2.1 Mide kanserinin klinik belirtileri

Mide kanserleri erken evrelerde ya belirti vermezler, ya da çok belirsiz semptomlarla seyrederler. Bu durum erken tanıyı zorlaştırmaktadır. Daha ileri aşamada şişkinlik, yutma güçlüğü, epigastrik ağrı veya erken doyma hissi ortaya çıkar. Çabuk doyma ve kusma mide çıkışı obstriksiyonunu akla getirse de, motilite bozukluğu nedeniyle tıkanıklık olmadan da kusma görülebilir. Epigastrik ağrı peptik ülserdekine benzer, ancak mide kanserli olguların ¼' ünde yemek yemekle veya antiasit almakla geçmez. Ağrının sırta yayılması tümörün pankreasa penetre olduğu anlamına gelebilir (Fuchs ve Mayer, 1995; Crew ve Neugut, 2004).

Mide kanserinin belirtileri arasında kanama ön plandadır. Kanamaya bağlı olarak halsizlik, çabuk yorulma gibi belirtilerle kendini gösteren anemi gelişebilir. Daha önemli kardiyovasküler ve serebral sonuçlar da görülebilir. Mide kanserleri nadiren perfore olur. Karaciğere metastaz yapan mide kanseri sağ üst kadran ağrısı, sarılık ve ateşle kendini gösterebilir. Akciğer metastazı öksürük, hıçkırık ve hemoptiziye yol açabilir. Peritoneal karsinomatozis diüretiklere dirençli asit oluşumuna neden olabilir. Mide kanserleri kemiklere de metastaz yapabilir (Fuchs ve Mayer, 1995; Crew ve Neugut, 2004).

2.2.2. Mide kanserinin tanısı

Endoskopik biyopsi ve patolojik inceleme %95-99 kesinlikle her iki tip mide kanseri tanısını koydurur. Kanserler küçük ülserasyonlar, polip veya kitle şeklinde görülebilir. Bazı hastalarda baryumlu radyografide ülserasyonlar görülebilir. Benign ülserler düzgün tabanlıyken, malign olanların çevresinde kabarıklık, düzensiz katlantılar ve tabanında düzensizlik vardır. Radyolojik görüntü benign bir ülser lehine değerlendirilse bile mutlaka endoskopi yapılıp lezyondan biyopsi alınmalıdır (Güvenir ve ark., 2004; Vainio ve Weiderpass, 2006).

Endoskopik ultrasonografi mide kanserlerinin evrelendirilmesi, hatta tanısında çok büyük kolaylıklar sağlamıştır. Tümörün boyutları, duvar tutulumu ve lenf nodu yayılımı değerlendirilebilir. Lenfadenopati ve mide dışı organlara yayılımı araştırmak üzere karın ve göğüs tomoğrafileri çekilmelidir. Bazı merkezlerde evrelendirme çalışmalarında kemik sintigrafileri de çekilmektedir (Erichsen ve Chanock, 2004).

2.2.3. Mide kanserinde tedavi

Mide kanserlerinde iyileşme sağlayan tedavi seçenekleri cerrahi rezeksiyon ve erken mide kanserlerinde lezyon mukoza ile sınırlıysa, endoskopik rezeksiyondur. Cerrahi rezeksiyon ancak hastaların sadece %25-30'unda mümkün olabilmektedir. Tümör midenin distalindeyse subtotal gastrektomi ile birlikte porta hepatis ve pankreas başındaki lenf nodları çıkarılır. Ancak tümör midenin proksimalindeyse lenf diseksiyonu da sağlayacak şekilde total gastrektomi ile birlikte genellikle distal pankreatektomi ve splenektomi de yapılır (Macdonald ve Schnall, 1995; Macdonald ve ark., 2001). Mide kanserleri kemoterapiye cevap veren nadir gastrointestinal kanserlerdendir. Tek ajan olarak 5-florourasil, doksorubisin, mitomisin C veya cisplatin uygulanarak %20-30 oranında kısmi yanıt oranları elde edilebilir. Belli kemoterapotiklerin birlikte kullanımı ile (doksorubisin ve mitomisin C, doksorubisin ve cisplatin, doksorubisin ve yuksek doz metotreksat) kısmi yanıt oranları %35-50 seviyelerine ulaşmaktadır (Macdonald ve Schnall, 1995; Icli ve ark., 1997). Mide kanserli hastalarda beslenme konusuna özel önem verilmelidir. Hasta total parenteral nutrisyonla ya da jejunal yolla beslenmelidir. Kusma ve ishale bağlı olarak gelişen metabolik anormallikler düzeltilmelidir. Aspirasyon ve spontan bakteriyel peritonitis

sonucu gelişen infeksiyonlar tedavi edilmelidir (Fuchs ve Mayer, 1995; Crew ve Neugut, 2004).

2.2.4. Hastalıktan korunma

Mide kanserinden korunmak için beslenmeye özen gösterilmesi bol meyve ve sebze tüketilmesi, dondurulmuş gıdaların yanı sıra, nitrik bileşikler içeren turşular, tütsülenmiş, kızartılmış, yanmış ve kömürleşmiş etler, gastrit ve atrofik gastrite yol açan acılı besinlerin sürekli tüketilmemesi, hayvansal protein ve vitaminler yönünden zengin bir diyet benimsenmesi gereklidir. Ayrıca, tütün ve alkolden uzak durulması, ağrı kesici ve vitaminler gibi ilaçların sürekli kullanımından kaçınılması, metal ve çimento tozlarından uzak durulması, hijyen kurallarına uyulmadan saklanan nişastadan zengin gıdaları tüketmekten kaçınılması gereklidir (Göçmen ve Akgül, 2000).

2.2.5. Mide kanserinde cinsiyet

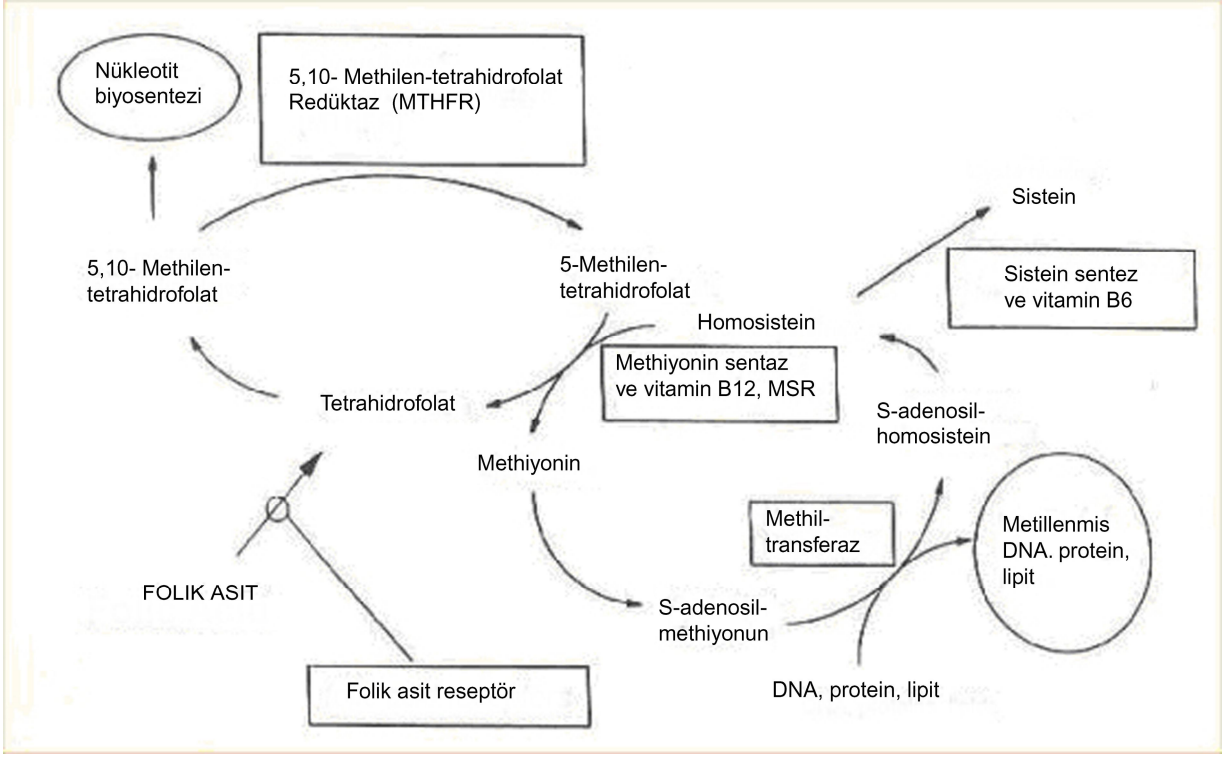
Mide kanseri hemen hemen tüm ülkelerde erkeklerde kadınlara oranla 1.2-2.5 kat daha fazla görülmektedir. İntestinal tipte bu oran 2/1 iken, diffuz tipte ise erkek kadın oranı eşittir. Bu erkek baskınlığı mide kanser insidansının yüksek veya düşük olduğu tüm ülkeler için geçerlidir (Türkdoğan ve ark., 1998; Plummer ve ark., 2004).

2.3.Folat Metabolizması

Folat suda eriyen bir B vitamini olup taze meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunmaktadır. Folat eksikliğinin karsinogenezde rol oynadığı uzun süredir bilinmektedir. Eksikliğinin potansiyel olarak iki mekanizma üzerinden kanser riskini arttırdığı gösterilmiştir: Birincisi, DNA'ya urasil eklenmesini engelleyerek kromozomal kırıkların ve mutasyonların oluşmasına neden olur. İkincisi ise anormal DNA metilasyonuna neden olarak protoonkogen ve tümör baskılayıcı genlerin aktivitelerini etkiler (Baylin ve ark., 1998; Duthie ve ark., 2004; Jang ve ark., 2005). Karsinogenezis, sadece folatın alım eksikliği neticesinde oluşmayıp aynı zamanda metabolizmasında rol oynayan genlerin polimorfizmi sonucunda da meydana gelmektedir. Folatın metabolik yolağında (Şekil: 2.2) birçok genetik polimorfizmler bulunmakla birlikte, 5-10

metilentetrahidrofolat reduktaz (MTHFR) geni şimdiye kadar üzerinde en çok araştırma yapılan gen ailesidir (Bird, 1996).

B9 vitamini olan folik asit ve vitamin B12, gen ekspresyonu ve DNA konformasyonunu belirleyen DNA'daki metilasyon paternlerinin devamlılığında metiyonin ve S-adenozil L-metiyonin (SAM) sentezi için gereklidir. DNA metilasyonu, insanlarda replikasyondan sonra temel epigenetik modifikasyondur (Baylin ve ark., 1998). Folik asit veya 5-metiltetrahidrofolat, homosisteinden metiyonine metabolik transformasyonda kofaktördür. Memelilerde folik asit de novo sentezlenemez, ya diyet ile alınır veya barsakta mikroorganizmaların parçalanması ile elde edilir (Duthie ve ark., 2004).



Şekil 2.2. Folat metabolizması yolağı http://www.ds-health.com/abst/a0108.htm

Yeni kanser tanısı konanlarda ve daha önemlisi sağlıklı bireylerde metilasyon paternleri ve folat statüsü arasında ilişki saptanması, folatın DNA metilasyonunu modifiye etmesi ve riski değiştirmesine dair daha güçlü kanıt sağlamaktadır. Ancak, tümör gelişimi süresince DNA hipermetilasyonunun olabileceğine ilişkin kanıtlar artmaktadır. Folat eksikliği ise DNA hipometilasyonu ile sonuçlanır. Epidemiyolojik çalışmalar folik asidin gastrointestinal (Gİ) kanserlere karşı koruyucu rol aldığını göstermektedir. Metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) ve metiyonin sentaz (MS)

folat metabolizmasında rol almaktadır ve DNA metilasyonunu etkilediği düşünülmektedir. MTHFR oldukça polimorfiktir. İnsan GI kanser gelişim sürecinde, varyant genotipler özellikle 677CT (veya 677T) ve 1298C değişiklikleri MTHFR enzim aktivitesinde azalma ve anormal metilasyon gibi daha düşük plazma folat seviyesi ile sonuçlanmaktadır (Duthie ve ark., 2004; Jang ve ark., 2005).

2.3.1. Alkol, sigara kullanımı ve folat statüsü

Alkol birkaç yolla folatın hücrelerden uzaklaşmasına (deplesyona) neden olur; alkol kullanımı barsaklardan folatın emiliminde azalmaya neden olabilir, bunun yanında folat taşıyıcısı ekspresyonunu azaltması sonucu hücre içine folatın alımını azaltmaktadır. Alkol folatın böbreklerden tutulumunu engeller. Etanol metabolizması sonucu ortaya çıkan asetaldehit direk folatı ve folat metabolitlerini yıkıma uğratmaktadır (Zhu ve ark., 2002; Moskal ve ark., 2007)**.** Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada normal folat içerikli besinlerle beslenen ratlara alkol verilerek takip edilmiş ve intrakolonik asetaldehit düzeylerinin arttığı ve kolonik mukozada folat seviyelerinin belirgin bir şekilde azaldığı gösterilmiştir (Fang ve Xiao, 2003).

Sigara metil grubunun formasyonunu bozarak kobalamin metabolizmasını engellemektedir. Bu etkilerinden dolayı sigara ve alkol kullanımı MTHFR polimorfizmlerinin karsinojen etkilerini arttırabilmektedir. Birçok çalısmada sigara içiciliği ile etkileşen MTHFR polimorfizmi kardiyovasküler hastalık (Kim, 2000; Konings ve ark., 2002), kolon (Fuchs ve ark., 2002), mide (Koorstra ve ark., 2008) ve mesane (Miller ve ark., 1994) kanserinde artan risk ile sonuçlanmıştır.

2.3.2. Folat metabolizmasının anormal DNA metilasyonu üzerindeki rolü

DNA metilasyon yoluyla DNA'nın epigenetik modifikasyonunun, gen ekspresyonunun baskınlanması ve genomik stabilitenin artırılmasını da içeren birçok fonksiyonel role sahip olduğu gösterilmiştir (Li ve ark., 1993). DNA molekülünde spesifik yerlerde metillenen genler ya eksprese olmaz ya da az sayıda eksprese olur. Bu yolla, spesifik DNA metilasyonu gen ekspresyonunu kontrol eder. Bununla tutarlı olarak birçok araştırma DNA'nın normal kalıplarındaki sapmaların kanser gelişimi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Bor ve ark., 2007). Anormal DNA metilasyonunun karsinogenezde ana rol oynadığına ilişkin kanıtlar mevcuttur (Fenech, 2001). DNA

metilasyon durumu orta derece azalmış folat statüsünün fonksiyonel göstergesi olarak kullanılabilir (Rampersaud ve ark., 2000). Folat alımına DNA metilasyon cevabı izlendiğinde, kromozom kırılması ve DNA hipometilasyonunun önlenmesinde folik asit kritik rol oynadığı görülmüştür (Fenech ve ark., 1998).

Hücre kültürü ve sıçan modelleri kullanarak yapılan çalışmalarda folat ve/veya metil eksikliğinin metilasyonu değiştirdiği gösterilmiştir. Folat eksikliği tek başına DNA hipometilasyonuna neden olabilmektedir. Folik asitten fakir diyetle beslenen sıçanlarda 4 hafta sonra normal beslenen sıçanlara göre hipometillenmiş DNA saptanmıştır. Bu yüzden çoğu mekanistik çalışmalar bugüne kadar DNA metilasyonu, DNA bütünlüğünde bozulma ve DNA onarımında bozulmadaki değişikliklerin üzerinde durmaktadır. Sonuç olarak uzun periyodlarla devam eden folat eksikliğinin DNA hipometilasyonuna neden olduğu gözlenmiştir (Choi ve Mason, 2000).

2.3.3 Folik asit ve karsinogenez

Folat eksikliği, DNA hipometilasyonuna, uygunsuz protoonkogen aktivasyonuna ve malign transformasyonuna yol açmaktadır. Doku (Xiao ve ark.,2002) ve kanda (Fang ve ark., 1996; Fang ve ark., 1997) DNA metilasyonu ve folat durumu arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla yapılan çalışmalarda, plazma folik asit seviyesi, hipometilasyon gösterenlerde normal metilasyon gösterenlere göre daha düşük olduğu saptanmıştı. Yapılan çalışmalar insan mide kanseri oluşumunda protoonkogenlerin hipometilasyonunu öngörmektedir. Folat belki de atrofik gastritin prekanseroz gastrik lezyonlara dönüşümünü önlemek için kullanılabilir (Fang ve ark., 1997).

2.4 Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) Enziminin Yapısı ve Görevi

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi, folat metabolizmasında önemli role sahip olan, 563 aminoasitten oluşan bir enzimdir (Homberger ve ark., 2000; Rosenblatt, 2001). MTHFR, 5,10 metilentetrahidrofolatı [5,10-metilen Tetrahidrofolat (THF)] dönüşümsüz olarak 5-metil tetrahidrofolata (5-metil THF) dönüştürmektedir .

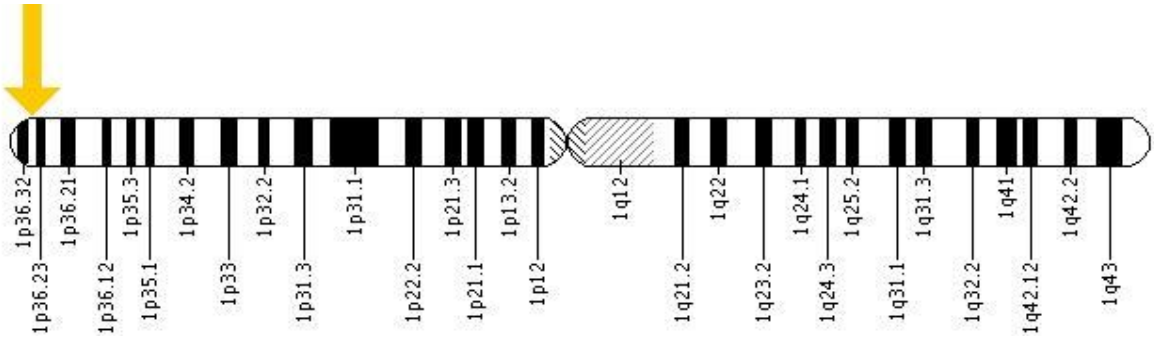
5-metil THF; DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için gerekli olan metil grubunu sağlar. 5,10- metilen THF ise deoksiuridilatın timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da purin sentezi icin 10-formil THF'a okside olmaktadır (Rosenblatt, 2001). MTHFR geninde meydana gelen mutasyonlar (en yaygın olanı

C677T polimorfizmi) enzim aktivitesinin azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda 5-metil THF düzeyi azalmakta, 5,10- metilen THF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır (Weisberg ve ark., 1998). MTHFR geninde görülen mutasyonlar, enzimde inaktivasyona neden olarak, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinuri'yi oluşturur (Stern ve ark., 2000a). MTHFR enziminin eksikliği durumunda klinik semptomlar geniş bir dağılım göstermektedir. Hiperhomosisteinemi ve homosisteinurinin ortaya çıktığı ciddi MTHFR eksikliğinde, periferal nöropati, gelişme geriliği, hipotoni, inme, tromboz gibi klinik özellikler görülür (Rosenblatt, 2001).

Kanser gelişme riski ile MTHFR polimorfizmleri arasındaki ilişki folat alımı ile modüle edilebilir. Folat alımı yeterli olursa MTHFR polimorfizmine rağmen kanser gelişme riski artmayabilir hatta azalabilir. Folat alımı yetersiz olduğunda metil donör sunumu ve DNA sentezinde aksamalar meydana gelmektedir (Fang ve Xiao, 2003). MTHFR geninde 15 farklı mutasyon tanımlanmış ve C677T ve A1298C mutasyonlarının en sık görülen mutasyon olduğu rapor edilmiştir. Bu mutasyonlardan, C677T polimorfizmi, enzimin katalitik bölgesinde, A1298C polimorfizmi ise enzimin regülator bölgesinde değişikliğe yol açmaktadır (Song ve ark., 2001). MTHFR polimorfizminin, artmış özefagus kanseri (Song ve ark., 2001), mide kanseri (Miao ve ark., 2002), meme kanseri (Shrubsole ve ark., 2004), hepatosellüler kanser (Saffroy ve ark., 2004), mesane kanseri (Lin ve ark., 2004), sessiz prostat kanseri (Cicek ve ark., 2004) ve servikal neoplazi (Piyathilake ve ark., 2000) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

2.4.1.Metilentetrahidrofolat redüktaz geni

İnsan MTHFR geni, kromozomun 1p36.3'de lokalize olmuştur ve 563 amino asitten oluşan MTHFR enzimini kodlamaktadır (Homberger ve ark., 2000). MTHFR geninin mRNA'sı 7150 bç uzunluğundadır.



Şekil 2.3. Kromozom 1'de MTHFR geninin lokalizasyonu

2.4.2. C677T polimorfizmi

C677T polimorfizmi, MTHFR geninin 4. ekzonunda 677. nükleotidindeki sitozinin (C) timine (T) değişimidir. Yanlış anlamlı bir değişiklik olan C677T, proteinde 226. pozisyonda alanin (Ala) valine (val) değişimine neden olmaktadır. Proteindeki bu değişiklik enzimin N-terminal katalitik bölgesini etkilemektedir. Mutasyon sonucu MTHFR aktivitesi azalır ve 5-metil tetrahidrofolat seviyesinde azalmaya neden olur. Bunun sonucu olarak da homosisteinin metiyonine dönüşememesi nedeniyle plazma homosistein seviyesinde artma olmaktadır (Demuth ve ark., 1998). MTHFR C677T polimorfizm sıklığı ırka ve coğrafik bölgeye göre büyük değişiklik göstermektedir, homozigot mutasyon oranı ABD'de zenci populasyonda ve Güney Amerika'da %1 iken Avrupa'daki toplumlarda Kuzey Amerika ve Avusturalya'da %6-20'dir. Avrupa'da kuzeyden güneye doğru gidildikçe görülme sıklığı artmaktadır (Rosenblatt, 2001). MTHFR'nin C677T polimorfizminin; meme, kolon, mide, özofagus, pankreas, endometrial kanser, akut lösemiler gibi malign hastalıklarda ve kardiyovaskuler hastalıklar, nöral tüp kusurları, inme gibi hastalıklarda bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir (Song ve ark., 2001; Lin ve ark., 2004). MTHFR polimorfizminden kaynaklanan azalan enzim aktivitesi, tümör süpressor genlerinin stabilitesini ve hipometilasyonunu etkilemektedir (Baylin ve ark., 1998).

2.5. Timidilat Sentetaz enzimi

Timidilat sentetaz (TS), deoksiuridin monofasfatın (dUMP) deoksitimidin monofosfata (dTMP) 5-10 metilen-THF aracılığıyla metilasyonunu katalize eder. Bu reaksiyon DNA sentezinde hız kısıtlayıcı basamaktır ve folat metabolizmasındaki

önemli bir enzimdir. Bu reaksiyon DNA sentezi için gerekli hücredeki timidinin de nova kaynağıdır. TS eksikliği kromozom kırıkları ve DNA da frajil bölgelerin oluşması ile sonuçlanır ve kanser gelişmesine yatkınlık oluşturur (Curtin ve ark., 2007). TS geninde oluşan polimorfizmler sonucunda tümör, invaziv kansere progresyon geliştirebilir ve metastatik hastalığa ilerleyebilir (Curtin ve ark., 2007).

2.5.1. Timidilat Sentetaz Geni

TS geni kromozom 18p11.32 bölgesinde lokalize olmuştur. TS geninin 5'UTR bölgesi, 28 bp tekrarlayıcı bölgeler olan düzenleyici elemanlar içerir. Çift ya da üçlü tekrarlar en yaygın bulunan tekrar bölgeleridir ve gen ekspresyonu ile ilişkilidir. Dörtlü, beşli ve dokuzlu tekrar bölgeleri tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2005). TS geninin mRNA büyüklüğü 1603 bç uzunluğundadır.

2.5.2. Timidilat sentetaz genindeki polimorfizmler

TS gen bölgesinde üç polimorfizm haritalanmıştır; TSER, TSER 3R G>C, TS 1494 del6. TS polimorfizmleri, TS ekspresyonu ve TS mRNA stabilitesini değiştirmektedir. TS genindeki polimorfizmler, deoksinukleotid trifosfat sentezinin aksamasına dolayısıyla DNA replikasyon hatalarının artmasına ve genomik instabiliteye neden olabilmektedir (Curtin ve ark., 2007). TSER polimorfizmi tekrar sayısı ve sıklığı farklı etnik guruplar arasında farklılık göstermektedir. Çin'lilerde TSER 3R allel sıklığının Güney Asya'dan daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2005). Türk populasyonunda yapılan bir çalısmada, TSER polimorfizmi; 2R/2R alleli %17,6, 2R/3R alleli %48,8 ve 3R/3R alleli %33,6 sıklığında tespit edilmiştir (Suzen ve ark., 2005).

Son çalışmalar TSER polimorfizmlerinin serum folat ve homosistein düzeylerini etkilediğini göstermiştir. İnvitro çalışmalarda elde edilen verilere bakıldığında 3R alelleri artmış TS mRNA ekspresyonunu göstermektedir. 3R/3R homozigot bireyler 2R/2R homozigot bireylerle karşılaştırıldığında daha yuksek TS mRNA seviyelerine sahiptirler. TSER polimorfizmlerinin mide ve kolorektal kanserlerde yüksek risk ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Zhang ve ark., 2005).

Zhang ve ark. (2007) Poland ve Warsaw populasyonlarında yaptıkları 305 kanserli birey 427 kontrol grubu içeren çalışmalarında, folat metabolizmasındaki genlerden, MTHFR, MTR ve MTRR'deki polimorfizmlerin mide kanseri gelişimi üzerindeki ilişkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlarda MTHFR gen polimorfizminin mide kanseriyle ilişkisinin olmadığı ve MTR ve MTRR polimorfizmleri için de dikkat çekici bir etki bulunmadığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak çalışmalarında mide kanseri için folat yolağında güçlü bir genetik belirleyici tespit etmemişlerdir.

Wang ve ark. (2005) Çin'in kuzeyindeki Anyang bölgesinde MTHFR ve TS gen polimorfizmlerinin mide kanseri oluşumu riskiyle ilişkisini araştırmak için, yaptıkları çalışmada, 129 mide kanserli birey ile 310 cinsiyet ve yaş uyumlu kontrol grubu kullanmışlardır. MTHFR677TT genotipinin MTHFR677CC/CT genotipine kıyasla mide kanserli bireylerde 1.8 oranında yüksek olduğunu, TS 2R genotipinin mide kanserinde folat metabolizması üzerinde önemli rol oynadığını ve yaygın fonksiyonel MTHFR C677T ve TSER polimorfizmlerinin bu metabolik yolda azımsanmayacak etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Zintzaras (2006) çalışmasında, MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmlerinin mide kanserine etkisini incelemiştir. 1.584 hasta, 2.785 kontrol grubu kullanılarak gerçekleştirilmiş sekiz vaka kontrol çalışmasının meta analizini yapmıştır. Bu çalışmada C677T allelinin C alleli ile kıyaslandığında %27 oranında mide kanseri riski içerdiğini ve bu etkinin önemli olduğunu belirtmiştir. A1298C polimorfizmini de mide kanser adenokarsinoması ile ilişkilendirmiştir. Seçilmiş bu çalışmalara karşıt bir kaynağın olmadığını belirtmiş ve sonuç olarak çoğunlukla Doğu Asya'da MTHFR polimorfizm ve mide kanseri arasında ilişki olduğunu kanıtlamıştır.

Cui ve ark. (2010) Kore popülasyonunda MTHFR C677T polimorfizminin mide kanseri ile ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında, 2213 yeni mide kanseri teşhisi konulmuş hasta ve 1700 sağlıklı kontrol grubu kullanmışlardır. Kore popülasyonunda MTHFR C677T genindeki CC, CT, TT genotiplerinin mide kanserlilerde görülme sıklığının sırasıyla %35.2, %47.5 %17.3, kontrol grubunda ise sırasıyla %31.8, %50.7, %17.5 olduğunu göstermişlerdir. MTHFR 677CT genotipi 677CC ile kıyaslandığında mide kanserinde azalmış risk içerdiğini belirtmişlerdir. MTHFR ve mide kanseri ile istatiksel olarak anlamlı olmasına rağmen gözlenen bu eğilimin koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Sigara ve içki içenlerde MTHFR C677T polimorfizmin

etkileşiminin anlamlı olmadığını gözlemlemişler ve sonuç olarak T allelinin mide kanseriyle ilişkisinin zayıf olduğunu belirtmişlerdir.

Jung ve ark. (2010) MTHFR ve TS gen polimorfizmlerinin mide kanserine duyarlılığı üzerine etkisini araştırmak amacıyla, 300 mide kanseri tubuler karsinoması teşhis edilmiş hasta ve endoskopiyle tümor yokluğu belirlenmiş 100 kontrol birey kullanarak çalışmışlardır. MTHFR mutant tiplerinin mide kanserinin ilerlemesinde iki kat daha fazla risk içerdiğini, mutant tiplerin yabanil tiple kıyaslandığında kansere yatkınlığının önemli derecede yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. TS genin genotipinde, mutant genotip oranının (2R/3R ve 3R/3R), mide kanserli grup ve kontrol grubu kıyaslandığında kanserli grupta önemli derecede yüksek olduğunu ve mide kanseri gelişiminde mutant tipin 3 kat daha fazla risk içerdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca mide kanseri gelişiminde MTHFR ve TS'deki 677CT+2R/3R ve 677CT+3R/3R kombinasyonlarının diğer kombinasyonlarla karşılaştırıldığında 3 kattan fazla risk içerdiğini belirtmişlerdir.

Boccıa ve ark. (2007a) Italyan populasyonunda yaygın MTHFR polimorfizmlerinin (C677T ve A1298C) maruz kalınan çevre şartlarıyla etkileşimini, mide adenokarsinomasına hassasiyetini ve ilerlemesini incelemişlerdir. 102 hasta ve 254 kontrol grubu ile yaptıkları bu çalışmada MTHFR 677T alleli taşıyan bireylerin mide kanseri riski içerdiğini, 677T genotipini taşıyan bireylerin özellikle sigara içenler arasında olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca MTHFR 677TT genotipinin mide kanserine etkisinin güçlü olduğunu ifade etmişler ve 677TT genotipini taşıyan bireylerinde düşük miktarda meyve ve sebze tüketenler arasında olduğunu belirtmişlerdir. MTHFR A1298C polimorfizminin mide kanseri üzerine herhangi bir ilişki saptamamışlardır. Sonuç olarak, MTHFR C677T alleli taşıyan genotipinin, özellikle sigara içen ve düşük meyve sebze tüketen bireylerde olduğunu ve bu bireylerin mide kanserine duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. DNA metillenmesindeki anormalliğin folat metabolizmasını bozduğunu bununda mide karsinogenezinde anahtar rol oynadığını ve MTHFR C677T genotipinin olası sağ kalım etkisinin mide kanserli hastalarda geniş örnekleme ile yapılıp araştırılması gerektiğini önermişlerdir.

De Re ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada, mide kanseri teşhisi konmuş 57 hasta ve 454 sağlıklı bireylerde MTHFR polimorfizmlerini değerlendirmişler. Mide kanserli hastaların 37'sinin 1. derecede akrabalarında mide kanseri hikayesi olduğunu belirtmişler. Hastalarda 677TT polimorfizminin riski arttırdığını belirlemişlerdir. 677C allel sıklığı her iki cinste azalırken, 677TT genotipinin bayanlarda görülme sıklığının

yüksek olduğu belirlenmiş ancak 677-1298 genotipleri cinsiyet ve yaşa göre sınıflandırıldığında istatiksel önem belirlenmemiştir. Sonuç olarak, bulgularında folatın mide kanseri olma riskinde rol oynadığını ve hastaların 1. derece akrabalarında da 677TT sıklığının genel popülasyondakine benzer olduğunu belirtmişlerdir.

Mu ve ark. (2007) mide kanserinin ciddi bir sağlık problemi olduğu Çin'de, çalışmaya aldıkları 206 yeni teşhisi konmuş mide kanserli hasta ve 415 sağlıklı bireyde MTHFR 677 yabanil tip homozigot genotipinin hastalarda görülme sıklığı oranını % 25.8, kontrol grubunda % 34.5 olarak bulmuşlar ve bu oranlardan, hasta bireylerde görülme sıklığının kontrol grubu bireylerde görülme sıklığından daha az olduğunu gözlemlemişler. Ayrıca düşük meyve ve sebze tüketen grubta C/T genotipinin görülme oranını 1.68, T/T genotipinin görülme oranını 3.58 olarak belirlemişler ve bu grubun T alleline maruz kalma eğiliminin yüksek olduğunu gözlemişlerdir. Sonuç olarak, Çin populasyonunda MTHFR 677TT genotipinin birincil mide kanser riski içerdiğini ve MTHFR gen polimorfizminin folat eksikliğini ve mide kanser riski etkisini arttırdığını tespit etmişlerdir. MTHFR'nin DNA metilasyonu ve DNA sentezini etkilediğini ve folat eksikliğine yol açarak kanser riskiyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Folat metabolizmasındaki MTHFR genindeki genetik varyasyonun folat seviyesini düşürdüğünü ileri sürmüşler ve MTHFR gen polimorfizmiyle mide kanseri riski arasındaki ilişkiyi değerlendirmiş aynı zamanda bu hastalıkta meyve ve sebze tüketiminin değişik etkilerini açıklamışlardır.

Boccia ve ark. (2007b) 2727 vaka ve 4640 kontol ile yapılmış toplam 4 ayrı çalışmanın değerlendirmesini yaptıklar metaanaliz çalışmasında MTHFR C677T polimorfizminin bireylerde folat seviyesini düşürdüğünü ve bu durumdan kaynaklanan folat eksikliğinin de mide karsinomasında rol oynadığını rapor etmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Etik Kurulundan alınan 2011/014 sayılı izin ile Helsinki Kriterlerine uygun olarak yürütülmüştür. Tüm hasta ve kontrol grubundaki bireylerden yazılı onam formu alınmıştır. Çalışmaya 2009 -2011 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi onkoloji polikliniğinde mide kanseri teşhisi konmuş gönüllü 12 kadın 26 erkek toplam 38 hasta, 29 kadın 19 erkek toplam 48 sağlıklı birey alınmıştır. Genetik değerlendirmeler Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü Moleküler Biyoloji laboratuvarında ve Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarlarında, biyokimyasal analizler ise Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuarında yapılmıştır.

Mide kanserli hastalardan ve kontrol grubu olan sağlıklı bireylerden, genetik değerlendirme için EDTA lı tüplere 8-10 ml ve biyokimyasal analiz için biyokimya tüplerine 5 ml kan alındı.

Çalışmada olgu ve kontrol gruplarında, Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) ve Timidilat Sentetaz (TS) gen polimorfizmleri sırayla, PZR-RFLP ve PZR-agaroz jel elektroforez yöntemi ile taranmıştır. Kan örneklerinden plazma folat seviyesine bakılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1 DNA izolasyonu

EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden SDS ve proteinazK yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden 5 ml si başka bir tüpe alınarak üzerine hacmi kadar soğuk distile su eklenerek alt üst edilip 4000 rpm de 15 dakika santrifuj edildi. Bu işlem arka arkaya üç kez tekrarlandı. Süpernatant kısım alınarak üzerine 3 ml taze hazırlanmış üreli parçalama çözeltisi eklendi. Pellet tamamen çözündü. Daha sonra 400 µl %20 SDS ve 100 µl 10 mg/µl proteinazK eklenerek 37 ˚C de 1 gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan çıkarılan örneklere 2 ml 5M NaCl eklenerek, 10-15 dakika alt üst edildi. Üzerine 8 ml kloroform konularak 4000 rpm de 15 dakika santrifuj edilen örneklerde santrifuj sonunda 3 ayrı faz gözlendi en üst faz ayrı bir tüpe alınarak üzerine hacmi kadar etil alkol eklendi. Bu

aşamada DNA ların yumak şeklinde oluşumu gözlendi. Yumak şeklinde görülen DNA lar %70 lik etil alkol bulunan 1,5 ml lik ependorf tüplere alınarak 10 dk 13000 rpm de santrifuj edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Bu yıkama işleminden sonra alkol tamamen dökülerek tüpler ağzı açık olarak vakumlu kurutucuda 40-45 dk kurutuldu. Kuruyan DNA lar üzerine 300 µl distile su eklenerek çözdürüldü. İzole edilen DNA lar spektrofotometride miktarları okutularak daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuya kaldırıldı.

3.2.2. MTHFR gen bölgesinin analizi

3.2.2.1. Primer özellikleri

Literatürde,C677T polimorfik bölgeyi içerecek şekilde tasarlanmış primerler seçilerek Metabion İnternational AG firmasından temin edildi. Primerlerle çoğaltılması hedeflenen gen bölgesinin büyüklüğü 198 bp uzunluğundaydı.

Tablo 3.1: MTHFR gen bölgesi için kullanılan primer dizileri

Primer dizisi	
İleri primer	5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3'
Geri primer	5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TC-3'

3.2.2.2 . PZR karışımının hazırlanması ve programlanması

100 ng olarak standartize edilen DNA'dan 1 µl, 1 pmol primer, 10mM dNTP, 0.5 ünit taq DNA polimeraz (fermantas) ve 2 µl $10^{\times}$ PZR tampon solüsyonu (100 mM Tris-HCL, 500 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$) toplamda 20 µl olacak şekilde distile su ile tamamlanarak 0.2 ml'lik tüplerde karıştırılıp Tablo3.2'deki sıcaklık ve sürelerde PZR yapılmıştır (Jung ve ark., 2010).

Tablo 3.2: MTHFR gen bölgesinin PZRsi için gerekli sıcaklık ve zaman

	Sıcaklık ºC	Zaman
Başlangıç denatürasyonu	95	5 dk
Denatüras	95	15 saniye
Birleşme	56	1 dk
Uzama	50	1 dk
	40 kez tekrar	
Son uzama	72	8 dk

3.2.2.3. RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm) analizi

Enzim kesim bölgesi

↓

5'…GANTC…3'
3'…CTNAG... 5'

↑

olan HinfI enzimi (vivantis) kullanılarak PZR ürünü 8 µl DNA, 1 µl tampon ve 1 µl Hinf I enzimi olacak şekilde karıştırılıp toplamda 10 µl'lik hacim içinde 37 ºC de bir gece inkübe edilerek kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.4. Jel elektroforezi ve görüntüleme

1 gr agaroz ile 50x TAE solüsyonundan 50 ml karıştırılarak kaynatılan jele 3.5 µl etidyum bromür ilave edilip jel tepsisine döküldü. Hazırlana %2'lik jel polimerize olmak üzere 30-45 dk bekletildikten sonra, jel üzerinde oluşan kuyucuklara 3.5 µl kesimi yapılan örnekler ve 1.5 µl yükleme boyası karıştırılarak yüklendi. Örnekler 75-80 V da yaklaşık 1 saat yürütülerek UV görüntüleme cihazında görüntülendi ve fotoğraflandı.

3.2.3. TS gen bölgesinin analizi

3.2.3.1. Primer özellikleri

Primerler Metabion İnternational AG firmasından temin edildi. Ts geninin hedef gen bölgesi 214 bp uzunluğundaydı.

Tablo 3.3: TS gen bölgesi için kulanılan primer dizileri

Primer dizisi	
İleri primer	5'-GTG GCT CCT GCG TTT CCC CC-3'
Geri primer	5'-GGC TCC GAG CCG GCC ACA GGC ATG GCG CGG-3'

3.2.3.2. PZR karışımın hazırlanması ve proğramlanması

100 ng olarak standardize edilen DNA'dan 1 µl, 1 pmol primer, 10mM dNTP, 0.5 ünite taq DNA polimeraz (fermantas) ve 2 µl $10^{\times}$ PZR tampon solüsyonu (100 mM Tris-HCL, 500 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$) toplamda 20 µl olacak şekilde distile su ile tamamlanarak 0.2 ml'lik tüplerde karıştırılıp Tablo3.4'deki sıcaklık ve sürelerde PZR yapıldı (Jung ve ark, 2010).

Tablo 3.4: TS gen bölgesinin PZR'si için gerekli sıcaklık ve zaman

	Sıcaklık ºC	Zaman
Baslangıc denaturasyonu	94	5 dakika
Denaturasyon	94	40 saniye
Birleşme	62.2	1 dakika
Uzama	72	40 saniye
	35 kez tekrar	
Son uzama	72	5 dakika

3.2.3.3. Agaroz Jel elektroforezi

2 gr agaroz ile sulandırılmış 50xlik TAE solüsyonundan 50 ml karıştırılarak kaynatılan jele 3.5 µl editiyum bromür ilave edilip playte döküldü. 3.5 µl PZR analizi

yapılan örnekler ve 1.5 µl yükleme boyası karıştırılıp hazırlanmış olan % 4'lük agaroz jele yüklendi. Örnekler 75-80 V da 25-30 dk yürütülerek UV görüntüleme cihazında görüntülendi ve fotoğraflandı.

3.2.4. Serumdaki folat miktarının tayini

Biyokimyasal tüplere alınan kan örneklerinin serumu ayrıldı ve folat kiti (Roche) kullanılarak analizi yapıldı.

3.2.5. İstatiksel analiz

Çalışmada, klinik ve biyokimyasal özellikler için tanımlayıcı istatistik bilgiler elde edildi. İlk olarak t-testi kullanılarak hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırma yapıldı. Hasta ve kontrol gruplarının genotiplerinin dağılımının değerlendirilmesi için ki-kare ve Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) testleri uygulandı. Analizler dominant, kodominant ve resesif modeller kullanılarak yapıldı. Dominat model, iki etkili allelle tanımlanır. Dominant model, allel 1 taşıyan homozigot bireylere karşı allel 2 taşıyıcıları olarak, Resesif model ise allel 2 için homozigot bireylere karşı allel 1 taşıyıcıları olarak tanımlandı ve karşılaştırıldı. Hasta ve kontrol gruplarında, SNP allel frekansları Odds oranı (OR) kullanılarak değerlendirildi. Ayrıca kontrol ve hasta gruplarının dominant, kodominant ve resesif modellerde ikili SNP genotiplerinin OR değerlerinin mide kanseriyle ilişkisi değerlendirildi.

Serum folat seviyesi değerlendirilmeden önce referans aralıkları belirlendi. İkinci aşamada SNP genotipleri sırasıyla 11, 12 ve 22 olarak kodlandı. Bireylerin serum folat seviyeleri kullanılarak serum folat seviyesinin SNP ile ilişkisi tek yönlü varyans analizi yapılarak değerlendirildi. Bütün analizler R 2.11.1 kullanılarak gerçekleştirildi ve istatistiksel olarak anlamlı olan $p \leq 0,05$ değeri dikkate alınarak değerlendirildi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Çalışma grubunun klinik özellikleri değerlendirildiğinde çalışmaya alınan hasta bireylerden 26'sının (%68.4) erkek, 12 sinin (%31.6) kadın, kontrol bireylerinin ise 19'unun (%39.6) erkek, 29'unun (%60.4) kadın olduğu tespit edilmiştir. Kanserli grubun yaş ortalaması 59 (37-79) olarak hesaplanmış, kontrol grubundaki bireylerin yaşları ise 25-75 arasında değişmekle birlikte ortalama 53 olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarında serum folat sevileri ise en düşük ve en yüksek değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Serum folat referans aralığı 3,1-17,5 olarak kabul edilmiştir.

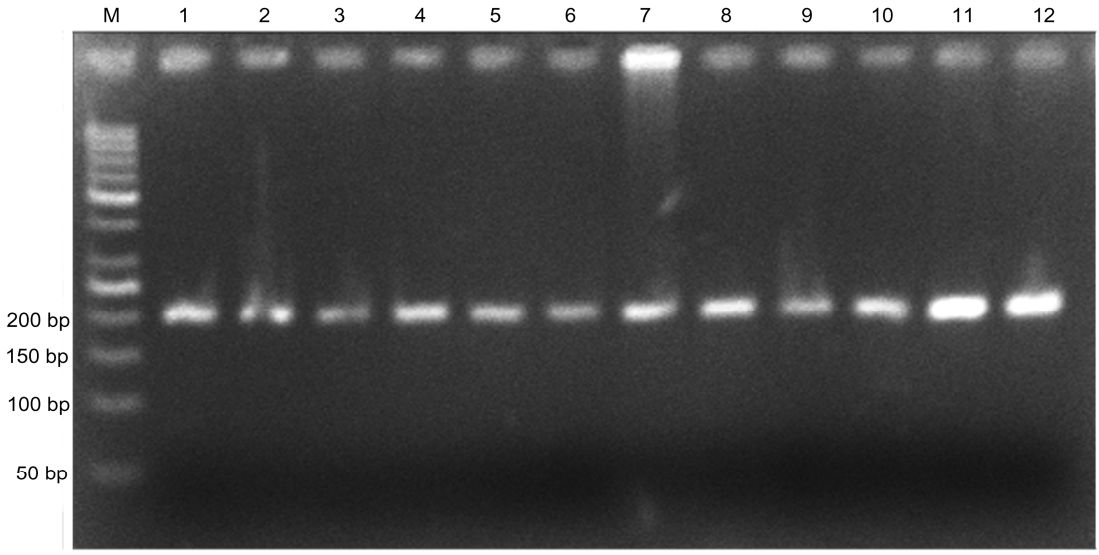
Tablo 4.1.Hasta ve kontrol gruplarının klinik özellikleri

	Hasta	Kontrol
Cinsiyet (E/K)	26/12	19/29
Yaş ortalaması	59 (37-79)	53 (25-75)
Folat seviyesi	5,37 ± 105	3,54 ± 22,62

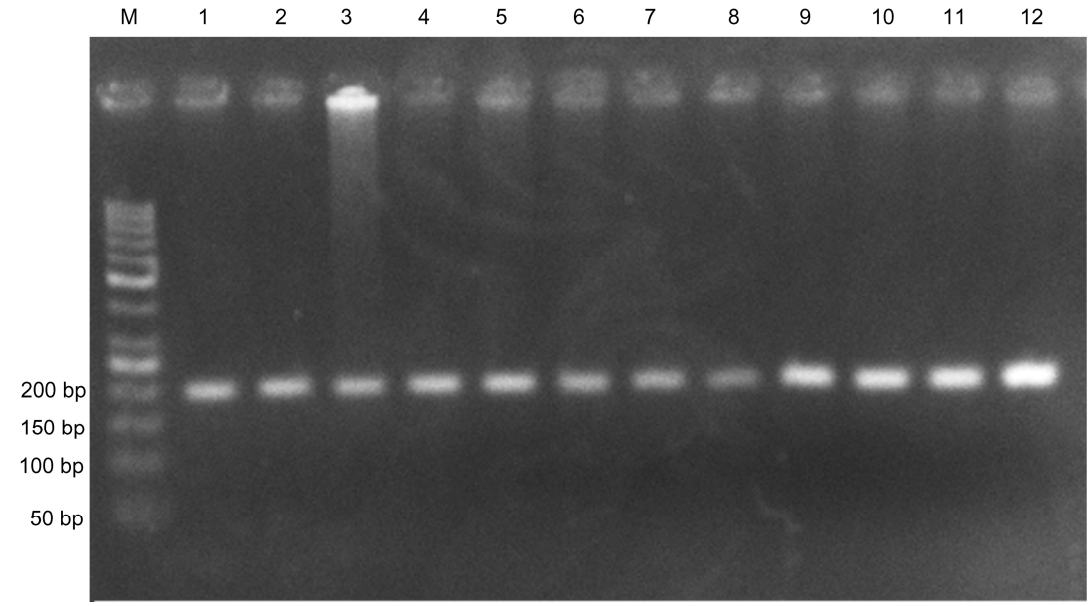
4.1. Genotipleme analizleri

4.1.1. MTHFR gen bölgesi PZR sonuçları

MTHFR gen bölgesine ait ürünler %2 lik agaroz jel elektroforezinde hem kontrol hemde hasta grubunda 198 bç büyüklüğünde bantlar şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.1 ve 4.2).



Şekil.4.1. MTHFR gen bölgesinde hasta grubundaki PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü.
M: moleküler ağırlık belirleyici (50 bç)



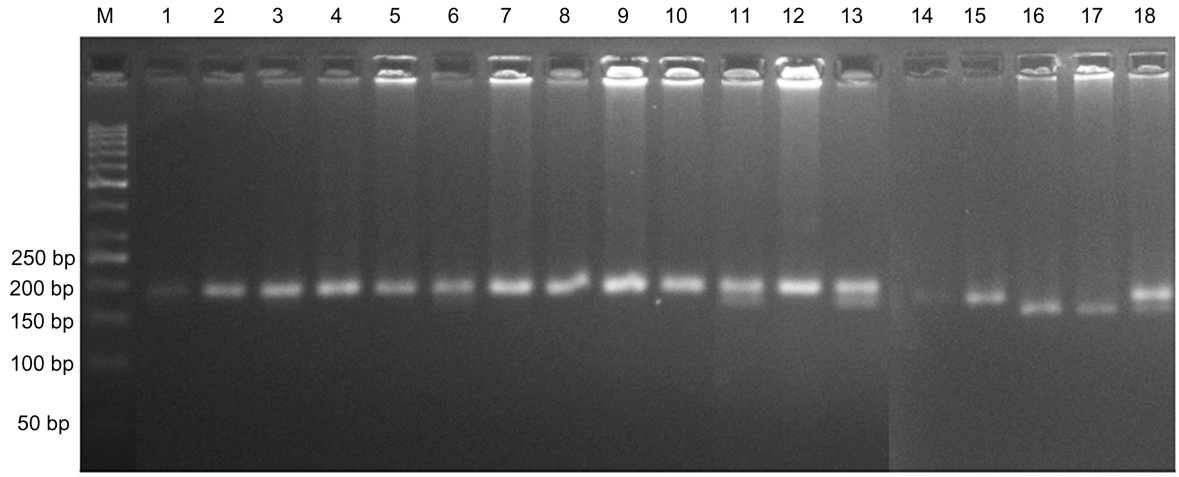
Şekil.4.2. MTHFR gen bölgesinde kontrol grubundaki PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü.
M: moleküler ağırlık belirleyici (50 bç)

4.1.2. MTHFR gen bölgesi için RFLP sonuçları

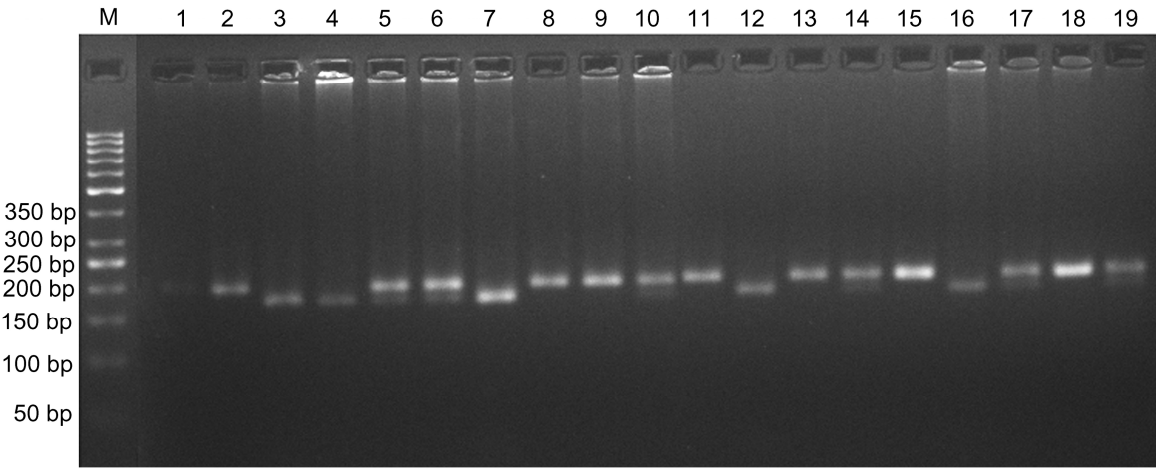
MTHFR C677T değişikliği yanlış anlamlı bir değişiklik olup aminoasit dizisinde alaninin valine değişimine yol açmaktadır. PZR ile elde edilen ürünlerden yabanil tip allellere sahip olan genotiplerin (C/C) HinfI enzimi ile kesimi olmamakla birlikte mutant olan allellerin (T/T) Hinf1 enzimi ile kesimi sonucunda 175 ve 23 bç uzunluklarında bantlar gözlenmiştir. C/C (yabanil tip) genotipinde allel1 ve allel2 kesilmeden kaldığı için 198 bç büyüklüğünde tek bir bant olarak gözlenmiştir. C/T (heterozigot tip) genotipinde allel1 198 bç ve allel2 175 ve 23 bç büyüklüğünde bantlar oluşturmuştur. T/T (homozigot mutant tip) genotipinde ise her iki allelide Hinf1 kestiği için 175 bç ve 23 bç büyüklüklerinde iki bant gözlenmiştir. MTHFR genindeki SNP'lerin genotiplerinin hasta ile kontrollerdeki görülme sıklıkları Tablo 4.2 de gösterilmiştir. Çalışılan hasta ve kontrol örneklerinin enzim kesimi sonuçlarının %2.5 luk agoroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4.3 ve 4.4. de görülmektedir.

Tablo 4.2. MTHFR genindeki SNP C677T genotiplerinin hasta ile kontrollerdeki görülme sıklıkları

SNP	Genotip	AA	Hasta (%)	Kontrol (%)
C677T	C/C	Ala/Ala	50	43.75
C677T	C/T	Ala/Val	39.5	37.5
C677T	T/T	Val/Val	10.5	18,75



Şekil 4.3. Hasta grubu örneklerinde MTHFR C677T gen polimorfizminin %2.5'lük agaroz jel görüntüsü
[1-5, 7-10, 12, 14-15: C/C (198 bç)], [6,11,13,18: C/T (198,175,23 bç)], [16-17: T/T (175 bç)].
M: moleküler ağırlık belirleyici (50 bç).



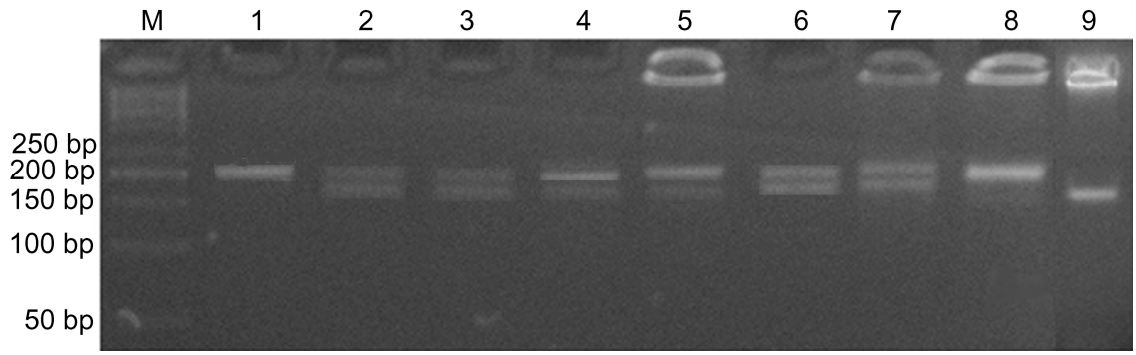
Şekil 4.4. Kontrol grubu örneklerinde MTHFR C677T gen polimorfizminin %2.5'lük agaroz jel görüntüsü
[1-2, 8-9, 11,13,15,18: C/C (198 bç)], [5-6, 10,14,17,19: C/T (198, 175 ve 23 bç)],
[3-4, 7,12,16: T/T (175 bç)].
M: moleküler ağırlık belirleyici (50 bç).

4.1.3. TS gen bölgesi için agaroz jel elektroforez sonuçları

Ts geninin 5' ucundaki enhansır bölgesinde (TSER) 28 bçlik tekrar dizi polimorfizmlerinin belirlenmesi için PCR ürünleri direk agaroz jel elektroforezinde değerlendirildi. Yabanil allel (2R) 214 bç uzunluğunda tek bir bant şeklinde gözlenirken, mutant olan allel (3R) 28 bç'lik bir insersiyonla 242 bç'i büyüklüğünde bir bant vermiştir (Şekil 4.5). Mutant ve yabanil allellerin oluşturdukları genotiplerin (2R/2R, 2R/3R, 3R/3R) hasta ve kontrol gruplarında görülme sıklığı Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3. TS genindeki mutasyon tiplerinin hasta ile kontrollerdeki görülme sıklıkları

Mutasyon tip	Genotip	İnsersiyon uzunluğu	Hasta (%)	Kontrol (%)
	2R/2R	214 bç	35,2	69,76
İnsersiyon	2R/3R	214/242 bç	47	11,62
İnsersiyon	3R/3R	242 bç	17,64	18,6



Şekil.4.5. Hasta ve kontrol gruplarında TS gen polimorfizminin %4'lük agaroz jel görüntüsü
[1: 3R/3R (242bç)], [2-8: 2R/3R (214 ve 242 bç)] [9: 2R/2R (214 bç)]
M: moleküler ağırlık belirleyici (50 bç)

4.2. İstatiksel sonuçlar

4.2.1. Çalışmaya katılan bireylerin klinik özellikleri

Çalışmaya katılan bireylerin yaş ve cinsiyetleri ile hastalık ilişkisi değerlendirildiğinde, hastalıkla yaş ve cinsiyete bağlı bir ilişki tespit edilmedi. Serum folat seviyelerinin ise kontrol grubunda normal referans aralığında (3,1-17,5) olduğu, hasta grubunda normalin üzerinde değerlere sahip olduğu gözlendi.

Çalıştığımız hasta grubu kemoterapi tedavisi görmekteydi. Kemoterapi tedavisiyle birlikte kullanılan lökoverin metatrekset tipi ilaçlar serumda folat miktarının yüksek çıkmasına neden olmakta. Hasta grubumuz daha önceden ilaç tedavisi gören grup olduğundan çoğunda folat miktarı normal referans aralığında çıkarken 6 hastada yüksek çıkmıştır. Bunun nedenini ilaç uygulamasının hemen takibinde serumdaki folat miktarına bakılmasına bağlayabiliriz. Ayrıca, kanserli hastaların serumlarında folatın düşük çıkması beklenirken, tedaviye ek olarak hastaların folat bakımından zengin besinlerle beslenmeleri ve vitamin takviyesinin bu değerlerin yüksek çıkmasına katkıda bulunduğunu düşünmekteyiz.

4.2.2. İlişki (asosiyasyon) çalışması

4.2.2.1. MTHFR gen bölgesindeki C677T polimorfizminin mide kanseri ile ilişkilendirilmesi

Kromozom 1p36.3 bölgesinde lokalize olan MTHFR gen bölgesinin 677'inci pozisyondaki C→T polimorfizminde mide kanseri ile ilişkisi yoktu. Dominant ve resesif modeller kurularak yapılan istatiksel değerlendirmelerde anlamlı bir ilişki belirlenmedi ($p>0.05$). Hasta ve kontrol grupları Hardy-Weinberg dengesindeydi ($p>0.05$).

4.2.2.2. TS gen bölgesi tekrar dizi polimorfizminin mide kanseri ile ilişkilendirilmesi

Kromozom 18p11.32 bölgesinde lokalize olan TS geninin enhansır bölgesindeki insersiyon (28 bçlik ardışık tekrar) sonucu oluşan polimorfizmin hastalık ile ilişkili olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Bu polimorfizmin mide kanseri ile ilişkisi dominant modelde (2R/3R+3R/3R vs 2R/2R) diğer modellere (2R/3R vs 2R/2R, 2R/3R vs 3R/3R) kıyasla daha anlamlı bulundu [OR:4,2 [CI: 1,622-11.030] p=0,001]. Yapılan istatistiki analizlere göre 3R allelinin risk alleli olduğu tespit edildi [OR:2.16 [CI: 1.087-4.317] p: 0,01]. TS gen polimorfizmi bakımından kontrol grubunun Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği belirlendi ($p<0.05$).

4.2.3. Genotip fenotip ilişkisi

MTHFR ve TS genlerindeki polimorfizmlerin serum folat miktarına etkisi değerlendirildiğinde serum folat miktarıyla istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Genetik polimorfizm bireyler arasında, spesifik karsinogenezlerin duyarlılıklarında farklılıklar meydana getirmektedir. Genetik polimorfizm tek başına karsinogenezin tek nedeni olmamakla birlikte, çevresel faktörler birlikte riski artırabilmektedir (Gonzalez 1997). Metilasyonu etkileyen genlerdeki polimorfizmler karsinogeneze yol açabilir. DNA metilasyonu epigenetik açıdan pek çok kanser patofizyolojisinde yer almaktadır (Jung ve ark., 2010). MTHFR ve TS gen polimorfizmleri DNA sentez ve tamir sistemlerini etkilemekle birlikte DNA metilasyonunun inhibisyonu ile karsinogenezde önemli rol oynamaktadır (Stern ve ark., 2000b).

MTHFR genindeki herhangi bir eksiklik veya genetik mutasyon folik asit döngüsünde MTHFR'nin biyolojik konsantrasyonunu ve aktivitesini azaltabilir. Besinlerle düşük folat alımında, hem DNA metilasyonu hem de DNA sentezi ve/veya tamiri, çeşitli MTHFR genotiplerine sahip kişilerde karsinogenezin gelişmesinin birincil nedeni haline gelebilir (Choi ve Mason., 2000). Guttormsen ve ark. (1996) ve Jung ve ark. (2010), MTHFR'nin üç genotipin enzimatik aktivitesi üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada yabanil genotipinin (677CC) tam enzimatik aktiviteye sahip olduğunu, heterezigot (677CT) ekspresyon oranının ise homozigot mutant (677TT) ekspresyon oranından daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ancak sadece heterozigot MTHFR mutant grubun (677CT) kontrol grubuna kıyasla gastrik kansere yüksek duyarlılıkta olduğunu (RR: 2.581, $p=0.016$) belirtmişlerdir. Aksine bu çalışmada ise MTHFR gen bölgesindeki polimorfizmin (C677T) mide kanseriyle ilişkisi tespit edilememiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde Zeybek ve ark. (2007) Türk

populasyonunda mide kanserli bireylerle yaptıkları çalışmalarında MTHFR 677TT genotipinin görülme sıklığının kontrol grubundan daha yüksek olduğunu fakat bu farklılığın istatiksel olarak önemli olmadığını bulmuşlardır. Elde ettikleri sonuçlar heterozigot MTHFR C677T allelinin mide kanserli hastalarda bir risk faktörü olarak rol oynamadığını desteklemiştir. Bu çalışmada ise 677TT mutant genotipinin görülme sıklığının beklenildiğinin aksine kontrol grubunda yüksek olduğu belirlenmiş, heterozigot 677CT'nin görülme sıklığının ise hasta grubunda kontrolden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu farklılığın istatiksel olarak öneminin olmadığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla MTHFR'nin hiçbir genotipin ne kanserle ilişkisi ne de folat metabolizmasıyla ilişkisi tespit edilmiştir. Bazı çalışmalar bu çalışma ile benzerlik göstererek T allelinin mide kanseri ile ilişkisinin zayıf ya da olmadığını savunmuşlardır (Zeybek ve ark., 2007; Cui ve ark., 2010), bazıları ise T allelinin kanser riskini artırdığını ve bu allelin özellikle sigara içen ve düşük meyve sebze tüketen bireylerde olduğunu, MTHFR677TT genotipinin MTHFR677CC/CT genotipine kıyasla mide kanserli bireylerde 1.8 oranında artış gösterdiğini belirtmişlerdir (Wang ve ark., 2005; Zintzaras., 2006; Boccıa ve ark., 2007a). Ayrıca düşük folatlı beslenme yaşam tarzı olan Çin populasyonunda mide kanserinin gelişiminde MTHFR 677TT genotipinin birincil risk olduğu ve aynı zamanda folat eksikliğini arttırdığı da rapor edilmiştir (Mu ve ark., 2007).

Timidilat Sentetaz (TS) DNA'nın yeniden sentezlenebilmesi için önemli bir öncül nükleotit olan timidilatın biyosentezinde rol oynayan folat bağımlı bir enzimdir (Kawakami ve ark., 2001; Trinh ve ark., 2002). Timidilat Sentetaz bir kofaktör olarak 5,10 MTHFR temsilcisi tarafından nükleotit sentezinde deoksiüridin monofosfatın (dUMP) metilasyonunu katalizler. Enzimin bu fonksiyonu sadece hücredeki timidilat kaynağı olarak değil aynı zamanda DNA replikasyon ve tamir sistemleri için de çok önemlidir (Mandola ve ark., 2003). Bu enzim 5-fluorourasil (5-FU), 5-fluro-2-birincil deoksiuridin ve bazı folat analoğları gibi kanser kemoterapotik ajanlar için birincil hedef olarak ilgi çekmektedir. TS gen bölgesinin polimorfizmlerin çoğunluğu TS enhansır bölgesinin (TSER) çift ardışık tekrar (2R) veya üçlü ardışık tekrarlarından (3R) kaynaklanmaktadır ve üç genotipi vardır: yabanil tip 2R/2R, heterozigot mutant 2R/3R ve homozigot mutant 3R/3R (Kawakami ve ark., 2001). Tekrar sayısı arttıkça TS geninin ekspresyonu artmaktadır. TS geninin polimorfizmi folik asitin hücre içi seviyesini etkileyerek dUMP/dTMP oranının dengesizliğine ve sonuçta DNA replikasyonunda hataya neden olarak spesifik bir kansere duyarlılıkla

ilişkilendirilebilmektedir (Trinh ve ark., 2002). 2R tekrarlı TS geninin ekspresyonu 3R tekrarlılardan 3,6 kat daha ve 2R/2R genotipindeki TS mRNA seviyesi kanserli dokularda 3R/3R genotipindekinden 3.6 kat daha düşük olduğunu tespit etmişleridir (Kawakami ve ark., 2001; Trin ve ark., 2002). Jung ve ark. (2010) bu sonuçları destekler şekilde Kore populasyonundaki 2R/3R ve 3R/3R genotiplerinin mide kanserli gruplarda oldukça sık bulunduğunu, heterozigot ve homozigot TS mutant gruplarının kontrol grupları ile kıyaslandığında mide kanserine yüksek duyarlılığa sahip olduğunu ve mutant tipin 3 kat daha fazla risk içerdiğini göstermişlerdir (2R/3R=OR:3,033, 3R/3R=OR:3,317). Bu çalışmada da yapılan diğer çalışmaları destekler şekilde TS enhansır bölgesindeki polimorfizmlerin mide kanseriyle ilişkisi istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) ve 3R risk allelini oluşturmaktadır [OR:2.16 [CI: 1.087-4.317] p: 0,01]. Bütün raporların aksine yüksek risk populasyonu olan Çin'de, timidilat sentetaz enhansır bölgesinin (TSER) 2R/2R genotipinin diğer genotiplerle kıyaslandığında mide kanserinde 3.94 oranında artış görülmüştür (Wang ve ark., 2005). Çin populasyonunda 2R tekrarı içeren genotipler nadir olarak görülmektedir. Bu durum diğer populasyonlardan farklı olarak 2R allelini içeren genotiplerin kanserle ilişkili olmasını açıklayabilir. Sonuç olarak folat metabolizmasındaki değişiklikler karsinogenezin gelişmesinde rol oynamaktadır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Kanser, hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve çevre doku ve organlara yayılması ile karakterize edilen bir hastalıktır. Eğer yayılma kontrol edilmezse ölümle sonuçlanır (American Cancer Society, 2007). Gastrointestinal kanserler dünya çapında en sık rastlanan kanser tiplerindendir. Asya ve Afrika'da mide kanseri sıklığı daha fazladır. Kalıtsal ve sigara, hayat tarzı, fiziksel aktivite ve diyet gibi çevresel faktörler bu tip kanserlerin oluşumunda önemli rol oynamaktadır (Kelsen, 2001).

Folat eksikliğinin karsinogenezde rol oynadığı uzun süredir bilinmektedir (Duthie ve ark., 2004). Karsinogenezis, sadece folatın alım eksikliği neticesinde oluşmayıp aynı zamanda metabolizmasında rol oynayan genlerin polimorfizmi sonucunda da meydana gelmektedir. MTHFR ve TS enzimleri folat metabolizmasında anahtar rol oynayan enzimlerdir ve bu genlerin polimorfizmleri folat metabolizmasını DNA sentez ve tamirini olumsuz etkilemektedir (Bird, 1996).

İç Anadolu bölgesinde yapılan bir çalışmada MTHFR gen polimorfizmi CC, CT ve TT genotiplerinin görülme sıklığı sırasıyla %42, %54.677, %4 olarak belirlenmiştir (Koçak ve ark., 2009). Bu çalışmadaki CC, CT ve TT genotip sıklıkları ise sırasıyla % 46.51, %38.37, %15,11 olarak tespit edilmiştir. Türk populasyonunda TSER polimorfizmi ile ilgili yapılan başka bir çalışmada; 2R/2R genotipi %17.6, 2R/3R genotipi %48.8 ve 3R/3R genotipi %33.6 sıklığında tespit edilmiştir (Suzen ve ark., 2005). Bu çalışmada ise TSER polimorfizmi; 2R/2R, 2R/3R, 3R/3R genotipleri sırasıyla % 54.54, % 27.27 ve % 18.18 olarak belirlenmiştir. Çalışmada MTHFR C677T polimorfizmi ile mide kanseri riski arasında bir ilişki bulunamazken ($p \geq 0.05$), TS gen polimorfizmi 2R/3R ve 3R/3R genotipleri mide kanseriyle ilişkili bulunmuştur ($p < 0.05$) ve hastalarda serum folat miktarının yüksek çıktığı tespit edilmiştir.

Folat metabolizmasının mide kanserinin gelişmesinde rol oynayabileceğini destekler yöndedir.

5.2 Öneriler

Bu çalışmada Konya bölgesinde mide kanseri tanısı konmuş hastalardan ve sağlıklı kişilerden alınan kan örnekleri incelenmiştir. Çalışma daha geniş bölgelerde yapılarak Türk popülasyonunun MTHFR ve TS gen polimorfizmi ile mide kanseri

ilişkisi belirlenebilir. Ayrıca folat seviyesiyle birlikte homosistein seviyesi ve folat metabolizmasında görevli diğer gen bölgelerinin polimorfizmleride birlikte değerlendirilerek, daha geniş çaplı bir çalışma yapılabilir.

KAYNAKLAR

American Cancer Society, (2007), "Cancer Facts & Figures 2007", Atlanta, *American Society,*

Bailey, L.B., 1990, Folate status assessment. *In The Journal Of Nutrition*, *120 (11)*, 1508-1511.

Bailey, L.B., Gregory, J.F., Caudill, M., Cruz, A., 2001, The relationship between increased folate stetabolism and the increased requirement for folate in pregnancy, *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 108, 772-773.

Baylin, SB., Herman, JG., Graff, JR., Vertino, PM., Issa, JP., 1998, Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia, *Adv Cancer Res*, 72, 141–96.

Bird, AP., 1996, The relationship of DNA methylation to cancer, *Cancer Surv*, 28, 87–101.

Boccia, S., Gianfagna, F., Persiani, R., La Greca, A., Arzani, D., Rausei, S., D'Ugo, D., Magistrelli, P., Villari, P., Van Duijn, C.M., Ricciardi, G., 2007a, Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and susceptibility to gastric adenocarcinoma in an Italian population, *Biomarkers*, 12 (6), 635-644.

Boccia, S., Hung, R., Ricciardi, G., Gianfagna, F., P. A. Ebert, M., Fang, J.Y., Gao, C.M., Götze, T., Graziano, F., Lacasana-Navarro, M., Lin, D., Lopez-Carrillo, L., Qiao, Y.L., Shen, H., Stolzenberg-Solomon, R., Takezaki, T., Weng, Y.R., Fang Zhang, F., M. van Duijn, C., Boffetta, P., and Taioli, E., 2007b, Meta- and Pooled Analyses of the Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and A1298C Polymorphisms and Gastric Cancer Risk: A Huge-GSEC Review, *American Journal of Epidemiology*, 167, 526, 79-84.

Bor, S., Vardar, R., Ormeci, N., Memik, F., Süleymanlar, I., Oguz, D., Çolakoğlu, S., Yücesoy, M., Türkdoğan, K., Gürel, S., Doğan, I., Yıldırım, B., Goral, V., Dökmeci, G., Okcu, N., Duman, D., Şimşek, I., Demir, A., 2007, Prevalence patterns of gastric cancers in Turkey: model of a developing country with high occurrence of Helicobacter pylori, *J Gastroenterol Hepatol*, 22, 2242-5.

Canzian, F., Franceschi, S., Plummer, M., Van Doorn, LJ., Lu, Y., Gioia- Patricola, L., Vivas, J., Lopez, G., Severson, RK., Schwartz, AG., Munoz, N., Kato, I., 2008, Genetic polymorphisms in mediators of inflammation and gastric precancerous lesions, *Eur J Cancer Prev,* 17, 178-83.

Choi, S.W., Mason, J.B., 2000, Folate and carcinogenesis: an integrated scheme, *In The Journal Of Nutrition* 130,129 – 132.

Cicek, MS., Nock, NL., Li, L., et al, 2004, Relationship between methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C genotypes and haplotypes and prostate cancer risk and aggressiveness, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 13, 1331-6.

Correa, P., 2004, Is gastric cancer preventable?, *Gut*, 53, 1217-9.

Correa, P., Schneider, B.G., 2005, Etiology of gastric cancer: what is new?, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 4, 1865-1868.

Crew, KD., Neugut, AI., 2004, Epidemiology of upper gastrointestinal malignancies. *Semin Oncol,* 31, 450-64.

Crew, KD., Neugut, AI., 2006, Epidemiology of gastric cancer, *World J Gastroenterol,* 2, 354-62.

Cui, L. H., Shin, M.H., Kweon, S.S., Kim, H.N., Song, H.R., Piao, J.M., Choi, J.S., Shim, H.J., Hwang, J.E., Kim, H.R., Park, Y.K., Kim, S.H., 2010, Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with gastric and colorectal cancer in a Korean population, *BMC Cancer*, 10, 236.

Curtin, K., Ulrich, CM., Samowitz, WS., Bigler, J., Caan, B., Potter, JD., Slattery, ML., 2007, Thymidylate synthase polymorphisms and colon cancer: associations with tumor stage, tumor characteristics and survival, *Int J Cancer*, 120, 2226-32.

De Vries, AC., Kuipers, EJ., Rauws, EA., 2009, Helicobacter pylori Eradication and Gastric Cancer: When Is the Horse Out of the Barn?, *Am J Gastroenterol*, 104, 1342-5.

De Re., Cannizzaro, R., Canzonieri, V., Cecchin, E., Caggiari, L., De Mattia, E., Pratesi, C., De Paoli, P., Toffoli, G., 2010, MTHFR polymorphisms in gastric cancer and in first-degree relatives of patients with gastric cancer, *Tumor Biol,* 31, 23-32.

Demirelli, F,H., 2003, Kanserin Moleküler Genetik Temelleri, *Güncel Klinik Onkoloji Sempozyum Dizisi No:37,* 9-15.

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

Demuth, K., Moatti, N., Hanon, O., Benoit, MO., Safar, M., Girerd, X., 1998, Opposite effects of plasma homocysteine and the methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation on carotid artery geometry in asymptomatic adults, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 18, 1838-43.

Duthie, SJ., Narayanan, S., Sharp, L., Little, J., Basten, G., Powers, H., 2004, Folate, DNA stability and colo-rectal neoplasia, *Proc Nutr Soc*, 63, 571-8.

Erichsen, HC., Chanock, SJ., 2004, SNPs in cancer research and reatment, *Br J Cancer*, 90, 747–51.

Fang, JY., Xiao, SD., 2003, Folic acid, polymorphism of methyl-group metabolism genes, and DNA methylation in relation to GI carcinogenesis, *J Gastroenterol*, 38, 821-9.

Fang, JY., Xiao, SD., Zhu, SS., Yuan, JM., Qiu, DK., Jiang, SJ., 1997, Relationship of the plasma folic acid and the status of DNA methylation in human gastric cancer, *J Gastroenterol*, 32, 171–5.

Fang, JY., Zhu, SS., Xiao, SD., Jiang, SJ., Shi, Y., Chen, XY., et al, 1996, Studies on the hypomethylation of c-myc, c-Ha-ras oncogenes and histopathological changes in human gastric carcinoma, *J Gastroenterol Hepatol*, 11, 1079–82.

Fenech, M., 2001, The role of folic acid and vitamin B12 in genomic stability of human cells, *Mutation Research* 475,57-67.

Fenech, M., Aitken, C., Rinaldi, J., 1998, Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults, *Carcinogenesis*, 19, 1163–71.

Fuchs, CS., Mayer, RJ., 1995, Gastric carcinoma, *N Engl J Med*, 333, 32-41.

Fuchs, CS., Willett, WC., Colditz, GA., Hunter, DJ., Stampfer, MJ., Speizer, FE., et al, 2002, The influence of folate and multivitamin use on the familial risk of colon cancer in women, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11, 227–34.

Gianfagna, F., De Feo, E., M. Van Duijn, C., Ricciardi, G., Boccia, S., 2008, A Systematic review of meta-analyses on gene polymorphisms and gastric cancer risk, *Current Genomics*, 9, 361-374.

Goldgar, DE., Easton, DF., Cannon-Albright, LA., Skolnick, MH., 1994, Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands, *J Natl Cancer Inst*, 86, 1600-1608.

Gonzalez, FJ., 1997, The role of carcinogen-metabolizing enzyme polymorphisms in cancer susceptibility. *Reprod Toxicol* 11, 397-412.

Göksel, S., 1998, Mide kanseri. In: Topuz E, Aykan F, Demir C (ed), Sindirim sistemi kanserleri, *İstanbul, İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Yayınları,* 216-229.

Göçmen, E., Akgül, H., 2000, "Mide Kanserinde Risk Faktörleri." *Turkiye Klinikleri J Surgery.*

Götze, T., Röcken, C., Röhl, F.W., Wex, T., Hoffmann, J., Westphal, S., Malfertheiner, P., Ebert, M.P.A., Dierkes, J., 2007, Gene polymorphisms of folate metabolizing enzymes and the risk of gastric cancer, *Cancer Letters*, 251, 228-236.

Guilford, PJ., Hopkins, JB., Grady, WM., Markowitz, SD., Willis, J., Lynch, H., Rajput, A., Wiesner, GL., Lindor, NM., Burgart, LJ., Toro, TT., Lee, D., Limacher, JM., Shaw, DW., Findlay, MP., Reeve, AE., 1999, E-cadherin germline mutations define an inherited cancer syndrome dominated by diffuse gastric cancer, *Hum Mutat*, 14, 249-255.

Guttormsen, AB., Ueland, PM., Nesthus, I., Nygard, O., Schneede, J., Vollset, SE., et al, 1996, Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (> or =40 micromol/liter), The Hordaland Homocysteine Study, *J Clin Investm* 98, 2174-83.

Güvenir, H., Emeksiz, N., İkizler, N., Örmeci, N., 2004, Diagnosis of gastric carcinoma by classification on feature projections, *Artif Intell Med*, 31, 231-40.

Harrison, L.E., Zhang, Z.F., Karpeh, M.S., Sun, M., Kurtz, R.C., 1997, The role of dietary factors in the intestinal and diffuse histologic subtypes of gastric adenocarcinoma: a case-control study in the U.S, *American Cancer Society*, *80*,1021-1028.

Huang, XE., Tajima, K., Hamajima, N., et al. 2000, Effects of dietary, drinking, and smoking habits on the prognosis of gastric cancer. *Nutr Cancer*, 38, 30-36.

Homberger, A., Linnebank, M., Winter, C., Willenbring, H., Marquardt, T., Harms, E., Koch, HG., 2000, Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene, *Eur J Hum Genet*, 8, 725-9.

Icli, F., Karaoguz, H., Akbulut, H., Dincol, D., Demirkazik, A., Cay, F., 1997, Phase II study of a modified combination of etoposide, doxorubicin, and cisplatin for patients with advanced gastric cancer, *J Surg Oncol*, 64, 318-23.

Jang, H., Mason, JB., Choi, SW., 2005, Genetic and epigenetic interactions between folate and aging in carcinogenesis, *J Nutr*, 135, 2967S- 2971S.

Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Hao, Y., Xu, J., Murray, T., Thun, MJ., 2008, Cancer statistics, *CA Cancer J Clin*, 58, 71-96.

Ji J, Hemminki, K., 2006, Second gastric cancers among patients with primary sporadic and familial cancers in Sweden. *Gut*, 55, 896-8.

Jung, H., Lee, J. I., Lee, H.H., Kim, S.H., Hur, H., Jeon, H.M., 2010, Gastric cancer susceptibility according to methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase gene polymorphis, *J Korean Surg Soc*, 79, 27-34.

Kawakami, K., Salonga, D., Park, J.M., Danenberg, K.D., Uetake, H., Brabender, J., Omura, K., Watanabe, G., Danenberg, P.V., 2001, Different lengths of a polymorphic repeat sequence in the thymidylate synthase gene affect translational efficiency but not it is gene expression, *Clinical Cancer Research*, 7, 4096-5101.

Kelley, JR., Duggan, JM., 2003, Gastric cancer epidemiology and risk factors, *J Clin Epidemiol*, 56, 1-9.

Kelsen D, P., 2001, Principles and Practice of Gastrointestinal Oncology, Second Edition, Lipincott, *Williams & Wilkins.*

Kim, Y., 2000, Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: a paradigm of gene-nutrition interaction in carcinogenesis, *Nutr Rev*, 58, 205 -17.

Koçak, N., Özen, F., Yıldırım, M.E., Özdemir, Ö., 2009, Metilentetrahidrofolat (MTHFR) C677T ve A1298C gen polimorfizmleri, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 16 (3), 157-161.

Konings, EJ., Goldbohm, RA., Brants, HA., Saris, WH., 2002, Van den Brandt PA. Intake of dietary folate vitamins and risk of colorectal carcinoma: results from The Netherlands Cohort Study, *Cancer*, 95, 1421–33.

Koorstra, JB., Hustinx, SR., Offerhaus, GJ., Maitra, A., 2008, Pancreatic carcinogenesis, *Pancreatology*, 8, 110-25.

Li, E., Beard, C., Jaenisch, R., 1993, Role for DNA methylation in genomic imprinting, *Nature*, 366, 362–5.

Lin, J., Spitz, MR., Wang, Y., et al, 2004, Polymorphisms of folate metabolic genes and susceptibility to bladder cancer: a case-control study, *Carcinogenesis*, 25, 1639 – 1647.

Macdonald, JS., Schnall, SF., 1995, Adjuvant treatment of gastric cancer, *World J Surg*, 19, 221-5.

Macdonald, JS., Smalley, SR., Benedetti, J., Hundahl, SA., Estes, NC., Stemmermann, GN., Haller, DG., Ajani, JA., Gunderson, LL., Jessup, JM., Martenson, JA., 2001, Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction, *N Engl J Med*, 345, 725-30.

Mandola, M.V., Stoehlmacher, J., Muller-Weeks, S., Cesarone, G., Yu, M.C., Lenz, H.J., Ladner, R.D., 2003, A novel single nucleotide polymorphism within the 5' tandem repeat polymorphism of the thymidylate synthase gene abolishes USF-1 binding and alters transcriptional activity, *Cancer Research*, 63, 2898-2904.

Miao, X., Xing, D., Tan, W., et al, 2002, Susceptibility to gastric cardia adenocarcinoma and genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase in an at-risk Chinese population, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11, 1454 – 8.

Miller, JW., Nadeau, MR., Smith, J., Smith, D., Selhub, J., 1 994, Folate deficiencyinduced homocysteinemia in rats: disruption of Sadenosylmethionine coordinate regulation of homocysteine metabolism, *Biochem J*, 298, 415–9.

Mu, L.N., Cao, W., Zhang, Z.F., Yu, S.Z., Jıang, Q.W., You, N.C., Lu, Q.Y., Zhou, X.F., Dıng, B.G., Chang, J., Chen, C.W., Weı, G.R., Caı,L., 2007, Polymorphisms of 5,10-methylenetetralydrofolate reductase (MTHFR), fruit and vegetable intake, and the risk of stomach cancer, *Biomarkers,* 12(1), 61-75.

Moskal, A., Norat, T., Ferrari, P., Riboli, E., 2007, Alcohol intake and colorectal cancer risk: a dose-response meta-analysis of published cohort studies, *Int J Cancer*, 120, 664-71.

Nelen, W.L., Blom, H.J., Thomas, C.M., Steegers, E.A., Boers, G.H., Eskes, T.K., 1998, Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism affects the change in homocysteine and folate concentrations resulting from low dose folic acid supplementation in women with unexplained recurrent miscarriages, *In The Journal Of Nutrition*, 128, 1336-1341.

Parkin, DM., Bray, F., Ferlay, J., Pisani, P., 2002, Global cancer statistics, *CA Cancer J Clin*, 55, 74-108.

Piyathilake, CJ., Macaluso, M., Johanning, GL., et al, 2000, Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism increases the risk of cervical intraepithelial neoplasia, *Anticancer Res*, 20, 1751 – 7.

Plummer, M., Franceschi, S., Munoz, N., 2004, Epidemiology of gastric cancer, *IARC Sci Publ,* 157, 311-26.

Rampersaud, GC., Kauwell, GPA., Hutson, AD., Cerda, JJ., Bailey, LB., 2000, Genomic DNA methylation decreases in response to moderate folate depletion in elderly women, *Am J Clin Nutr*, 72, 998–1003.

Rosenblatt, DS., 2001, Methylenetetrahydrofolate reductase, *Clin Invest Med,* 24, 56-9.

Rozen, P., 2004, Cancer of the gastrointestinal tract: early detection or early prevention?, *Eur J Cancer Prev*, 13, 71-5.

Saffroy, R., Pham, P., Chiappini, F., et al, 2004, The MTHFR 677C > T polymorphism is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis, *Carcinogenesis*, 25, 1443 – 8.

Sanjoaquin, M.A., Allen, N., Couto, E., Roddam, A.W., Key, T.J., 2005, Folate intake and colorectal cancer risk: a meta analytical approach, *International Journal Of Cancer*, 113, 825-828.

Shrubsole, MJ., Gao, YT., Cai, Q., et al, 2004, MTHFR polymorphisms, dietary folate intake, and breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 13, 190 – 6.

Song, C., Xing, D., Tan, W., et al, 2001 Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population, *Cancer Res,* 61, 3272 – 5.

Stern, LL., Bagley, PJ., Rosenberg, IH., Selhub, J., 2000a Conversion of 5-formyltetrahydrofolic acid to 5-methyltetrahydrofolic acid is unimpaired in folate-adequate persons homozygous for the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, *J Nutr*, 130, 2238-42.

Stern, LL., Mason, JB., Selhub, J., Choi, SW., 2000b Genomic DNA hypomethylation,a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 9, 849-53.

Suzen, H.S., Yuce, N., Guvenç, G., Duydu, Y., Erke, T., 2005, TYMS and DPYD polymorphisms in a Turkish population, *Eur J Clin Pharmacol*, 61, 881-9.

Şen, G., 2011, Mide Kanseri, http://www.gumushanesaglik.gov.tr/ haberdetay.asp? ID=335.

Tredaniel, J., Boffetta, P., Buiatti, E., et all, 1997, Tabacco smoking and gastric cancer: review and meta-analysis, *Int J cancer*, 72, 565-573.

Trinh, B.N., Ong, C.N., Coetzee, G.A., Yu, M.C., Laird, P.W., 2002, Thymidylate synthase: a novel genetic determinant of plasma homocysteine and folate levels, *Human Genetics*, 111, 299-302.

Türkdoğan, MK., Akman, N., Tuncer, İ., et al, 1998, The high prevalance of Esophagial and gastric cancers in eastern Turkey, *Med Biol Environn.*

Vainio, H., Weiderpass, E., 2006, Fruit and vegetables in cancer prevention, *Nutr Cancer*, 54, 111-42.

Verdecchia, A., Corazziari, I., Gatta, G., Lisi, D., Faivre, J., Forman, D., 2004, EUROCARE Working Group, Explaining gastric cancer survival differences among European countries, *International Journal Of Cancer*, 109, 737-741.

Wang, L.D., Guo, R.F., Fan, Z.M., He, X., Gao, S.S., Guo, H.Q., Matsuo, K., Yin, L.M., Li, J.L., 2005, Association of methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase promoter polymorphisms with genetic susceptibility to esophageal and cardia cancer in a Chinese high-risk population, *Diseases of the Esophagus*, 18, 177-184.

Weisberg, I., Tran, P., Christensen, B., Sibani, S., Rozen, R., 1998, A Second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity, *Moleculer Genetics and Metabolism*, 64, 169-72.

Xiao, SD., Meng, XJ., Shi, Y., Hu, YB., Zhu, SS., Wang, CW., et al, 2002, Interventional study of high-dose folic acid in gastric carcinogenesis in beagles, *Gut*, 50, 61–4.

Yalçin, S., 2009, Gastric cancer in Turkey-a bridge between west and East, *Gastrointest*

Cancer Res, 3, 29-32.

Zagari, R.M., Bazzoli, F., 2004, Gastric cancer: who is at risk?, *Digestive Disease*, 22, 302-305.

Zeybek, U., Yaylim, I., Yilmaz, H., Ağachan, B., Ergen, A., Arikan, S., Bayrak, S., Isbir, T., 2007, Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with gastric and colorectal cancer, *Cell Biochem Funct*, 25, 419-22.

Zhang, F.F., Terry, M.B., Hou, L., Chen, J., Lissowska, J., Yeager, M., Zatonski, W., Chanock, S., Morabia, A., Chow, W., 2007, Genetic Polymorphisms in folate metabolism and the risk of stomach cancer, Cancer Epidemiol Biomarkers, 16 (1) 115-130.

Zhang, Z., Xu, Y., Zhou, J., Wang, X., Wang, L., Hu, X., Guo, J., Wei, Q., Shen, H., 2005, Polymorphisms of thymidylate synthase in the 5'- and 3'-untranslated regions associated with risk of gastric cancer in South China: a casecontrol analysis, Carcinogenesis, 26, 1764-9.

Zhu, S., Mason, J., Shi, Y., Hu, Y., Li, R., Wahg, M., Zhou, Y., Jin, G., Xie, Y., Wu, G., Xia, D., Qian, Z., Sohg, H., Zhang, L., Russell, R., Xiao, S., 2003, The effect of folic acid on the development of stomach and other gastrointestinal cancers, *Chinese Medical Journal*, 116, 15-19.

Zhu, SS., Mason, J., Shi, Y., Hu, YB., Li, RR., Wang, M., et al, 2002, The interventional effect of folic acid on the development of gastric and other gastrointestinal cancers—clinical trial and follow-up for 7 years, *Chin J Gastroenterol*, 7, 73–8.

Zintzaras, E., 2006, Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms with genetic susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis, *Journal Human Genetics*, 51, 618-624.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İncilay Çelik Sümen
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Denizli 1986
Telefon : 05468564637
Faks :
e-mail : incilaycelik@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Fevzi aleettinoğlu lisesi Alanya Antalya	2004
Üniversite	:	Selçuk üniversitesi Konya	2009
Yüksek Lisans:		Selçuk üniversitesi Konya	2011
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2007	Meram tıp fakültesi	staj
2008	Meram tıp fakültesi	staj

UZMANLIK ALANI: Moleküler biyoloji ve genetik

YABANCI DİLLER: İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR