TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GSTT-1 ve GSTM-1 GEN DELESYONLARININ MİDE ADENOKARSİNOMU GELİŞİMİ RİSKİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Ömer Faruk BÜK

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hikmet AKGÜL

ANKARA
2011

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GSTT-1 ve GSTM-1 GEN DELESYONLARININ MİDE ADENOKARSİNOMU GELİŞİMİ RİSKİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Ömer Faruk BÜK

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hikmet AKGÜL

ANKARA
2011

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan

"GST T1 ve GST M1 GEN DELESYONLARININ MİDE ADENO KARSİNOMU ÜZERİNE OLAN ETKİSİ"
başlıklı,

Dr. Ömer Faruk BÜK'e ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Tıpta Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21.09.2011

Prof. Dr. Semih BASKAN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Hikmet AKGÜL
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Üye / Tez Danışmanı

Prof. Dr. İskender ALAÇAYIR
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Üye

ÖNSÖZ

Beş yıllık eğitimim süresince bilgi ve tecrubelerinden faydalandığım, başta hocalarım ve uzmanlarım olmak üzere, tüm kıdemli abi ve ablalarıma teşekkür ederim.

Uzmanlık tezimin hazırlanmasında emeği geçen Prof. Dr. Hikmet AKGÜL'e, Doç. Dr. Berna SAVAŞ'a, Doç. Dr. Hilal ÖZDAĞ'a, Uzm. Dr. Derya ÖZTUNA'ya, Biyolog Öznur ERDOĞAN'a, Biyolog Zehra VELİ'ye, Eşim Gamze BÜK'e ve bu dönemde henüz intrauterin olan oğlum Utku Yaman BÜK'e teşekkür ederim.

Beni bu günlere taşıyan sevgili babam NAMIK KEMAL BÜK'e, annem ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Dr. Ömer Faruk BÜK

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY i
ÖNSÖZ ii
İÇİNDEKİLER iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ v
ŞEKİLLER VE RESİMLER vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. MİDENİN ANATOMİSİ 3
2.1.1. Midenin Yapısı 3
2.1.2. Midenin Arterleri 4
2.1.3. Midenin Venleri 5
2.1.4. Midenin lenf kanalları ve lenf nodları 5
2.2. MİDE KANSERİNİN TARİHÇESİ 6
2.3. MİDE KANSERİNİN ETYOLOJİSİ VE PATOGENEZİ 8
2.3.1. Cinsiyet 10
2.3.2. Genetik yapı 10
2.3.3. Sosyoekonomik durum 10
2.3.4. Diyet 11
2.3.5. Sigara 11
2.3.6. Meslek 11
2.3.7. Radyasyon maruziyeti 12
2.3.8. Helicobacter pylori gastriti 12
2.3.9. Multifokal atrofik gastrit 12
2.3.10. Epstein-Barr virüs infeksiyonu 13
2.4. MİDE KANSERİNİN MOLEKÜLER TEMELİ VE GENETİK FAKTÖRLER 13
2.4.1. İnterlökin 1 (IL-1) 14
2.4.2. İnterlökin 8 (IL-8) 15

2.4.3. Sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) 16
2.4.4. TNF-alfa (TNF-α) 17
2.4.5. IL-16 17
2.4.6. INFɣ 18
2.4.7. SEPS1 18
2.4.8. Gulutatyon S Transferaz (GST) 18
2.4.9. Metilentetrahidrofolat Redüktaz 19
2.4.10. P53 20
2.4.11. P63-P73 21
2.4.12. E-cadherin 21
2.4.13. EMT regülâtörü 22
2.4.14. TGF- β 23
2.4.15. Kök hücreler 23
3. MATERYAL ve METOD 24
3.1. DNA İZOLASYONU 24
3.2. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU 28
3.2.1. GSTT1 Geni Amplifikasyonu İçin PCR Koşulları (137bç) 29
3.2.2. *GSTM1* Geni Amplifikasyonu İçin PCR Koşulları (165bç) 30
3.2.3. Beta-Globin (150bp) 31
3.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi 31
4. BULGULAR 33
4.1. İSTATİSTİKSEL SONUÇLAR 35
5. TARTIŞMA 43
6. ÖZET 47
7. SUMMARY 49
8. KAYNAKLAR 51
9. EKLER 65
EK-1. HASTA BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU (A)
EK-2. HASTA BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU (B)
EK- 3. ANAMNEZ ve ONAM FORMU

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BBF	: Brom-fenol mavisi
CYP2E1	: Cytochrome P450 2E1
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleozid trifosfat
ddH2O	: Double distile su
EBV	: Epstein-Bar Virus
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
EMT	: Epiteliyal Mezenkimal Transizyon
GSH	: Glutatyon
GST	: Glutatyon S tarnsferaz
GSTT1	: Glutatyon S tarnsferaz teta 1
GSTM1	: Glutatyon S tarnsferaz mü 1
GSTP1	: Glutatyon S tarnsferaz pi 1
H&E	: Hemotoksilen-Eozin
HP	: Helikobakter pylori
IL	: İnterleukin
IL1RN	: İnterleukin 1 receptor antagonisti
IL1RN VNTR	: İnterleukin 1 receptor antagonist variable number tandem repeat
INFɣ	: İnterferon gamma
MSCs	: Mezenkimal kök hücre
mtDNA	: Mitochondrial DNA
MTHFR	: Methylenetetrahydrofolate reductase
MÖ	: Milattan önce
NF-Kb	: Nuclear Factor-KappaB
OR	: Otozomal resesif
PCR	: Polymerase Chain Reaction
SEPS1	: Selenoprotein S
SNP	: Single-nucleotide polymorphism
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences

SRCC	: Signet Ring Cell Carsinoma-Taşlı Yüzük Hücrel Kanser
TBE1X	: Tris-HCl, Borik asit 1x solüsyonu
TNFα	: Tumor necrozis factor alpha
UIAC	: Uluslararası Kanser Savaş Örgütü
VNTR	: Variable Number Tandem Repeat
CI	: Confidence interval (güvenlik aralığı)

ŞEKİLLER VE RESİMLER

Şekil 1. Kromozom 22'de *GSTT1* genin lokasyonu 28

Şekil 2. Kromozom 1'de *GSTM1* genin lokasyonu 29

Resim 1. H&E boyalı lam üzerinde, mikroskop altında tümöral bölgenin işaretlenmesi 25

Resim 2. GSTT1(137bç)/β-Globin(150bç) %3'lük Agaroz jelde yürütülmüş PCR ürünlerinin elektroforez fotoğraf görüntüsüdür. Tek bandın görüldüğü 1 numaralı PCR ürününde GSTT1 gen delesyonu mevcuttur. Son örnek marker (SolisBioDyne- 100bp DNA Ladder). 32

Resim 3. GSTM1(165bç)/β-Globin(150bç) %3'lük Agaroz jelde yürütülmüş PCR ürünlerinin elektroforez fotoğraf görüntüsüdür. Tek bandın görüldüğü 1 numaralı PCR ürününde GSTM1 gen delesyonu mevcuttur. Son örnek marker (SolisBioDyne- 100bp DNA Ladder). 32

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Mide kanseri tüm dünyada en sık görülen 4. kanserdir (1). Düşük 5 yıllık survi göz önüne alındığında, tespiti ve risk faktörlerinin kontrolü en etkin korunma yöntemi olmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar göstermektedir ki; sigara içimi, H. pylori enfeksiyonu ve diyet, mide kanseri riskini arttıran önemli etyolojik faktörlerdir. Ancak mide kanserinin gelişiminin çevresel faktörlerle birlikte, genetik faktörlerin kompleks ilişkisinden meydana geldiği kabul edilmektedir (1). Değişik genlerin spesifik varyant alellerine bağlı genetik yatkınlık, çevresel maruziyetin etkisini modifiye edebilmektedir. Özellikle mide kanserine yatkınlığın bir kısmının prokarsinojenlerin biyoaktivasyonları ve karsinojenlerin detoksifikasyonunda kullanılan düşük penetranslı metabolik genlerdeki kalıtsal polimorfizimlerden kaynaklanması olasıdır. Bu genler arasında en çok çalışılan Glutation S transferaz geni (GSTM1 ve GSTT1) null alelleridir.

Ksenobiyotikler (Yunanca xenos-yabancı) vücuda yabancı olan bileşiklerdir. Kimyasal karsinojenler, ilaçlar ve çesitli toksik bileşikleri içerirler. Vücutta Faz I ve faz II reaksiyonları ile metabolize edilmektedirler. Faz I reaksiyonları; monooksijenazlar veya sitokrom P-450 (hidroksilasyon, redüksiyon ve hidroliz) enzimleri ile olur. Faz I ile hidroksile olan bileşikler, faz II ile polar metabolitlere dönüşürler. Amaç ksenobiyotiklerin sudaki çözünürlüklerini (polarite) artırmak ve bu şekilde vücuttan atılımlarını kolaylaştırmaktır. Faz II; glukoronidasyon, sulfasyon, metilasyon, asetilasyon ve glutatyon ile konjugasyon reaksiyonlarını içerir. Glutatyon (*y* glutamil sisteinil glisin); glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptitdir. GSH olarak kısaltılır. Glutatyon-S-transferaz, kısaca *GST* Glutatyonu sentezleyen enzimdir. GST geni GST enzimini kodlayan gendir. GST genleri tarafından kodlanan Glutatyon-S-Transferaz enziminin aktivitesinin azalması, mide kanserine yatkınlık ile ilişkili olabilir (1,2,3).

Çalışmamızın amacı Mide Adenokarsinomlu hastaların tümöral ve tümöral olmayan mide dokularındaki GST gen delesyonu durumunu, kontrol grubundaki hastaların mide dokularındaki GST gen durumu ile karşılaştırmaktır. GST gen delesyonu ile ilgili şu ana dek yapılan çalışmaların çoğunda genetik analizler periferik kan örneklerinde yapılmıştır. Biz direkt mide dokusundan analiz yapılarak, benzer çalışmalarla olan sonuç farklılıklarının ortaya koymayı amaçladık. Literatürdeki çalışma gruplarının çevresel faktörler açısından net ayrılmadığı görülüyor, ayrıca genetik faktörlerin çevresel faktörler ile birleştiğinde mide kanseri riskini ne denli etkilediği belirtilmemiş ve bu durum, bu çalışmaların önemli eksiklikleri olarak gözlenmiştir. Biz bu çalışmada genetik polimorfizmin yanı sıra alkol alımı, beslenme ve sigara içimi gibi faktörleri de çalışmaya dâhil edilerek kanser gelişim riski açısından polimorfizime olan katkılarını değerlendirmeye çalışacağız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MİDENİN ANATOMİSİ

Özofagus ile duodenum arasında yer alan mide; kardiya, fundus, korpus, antrum ve pilor olmak üzere beş bölgeye ayrılır. Mide, yukarıda alt özofagiyal sfinkter, aşağıda ise pilor sfinkteri olmak üzere iki sfinkter ile kontrol altına alınmıştır. Alt özofagiyal sfinkter, kardiyanın hemen üzerindeki yüksek basınç bölgesinden oluşan gerçek bir sfinkter mekanizmasına sahiptir. Dinlenme halinde iken kapalıdır. Yukarıdan peristaltik dalga geldiği zaman açılarak, yutulan gıda veya salgının mideye girmesine izin verir. Yüksek basınç bölgesi, hem yutma hem de dinlenme esnasında mide içeriğinin özofagusa kaçışını önler. Pilorik sfinkter, gerçek bir sfinkter olmadığı halde tam bir sfinkter gibi çalışır. Pilor bölgesindeki düz kas adalesinin yoğunlaşması ile oluşmuştur. Mide içeriği kimus haline gelmeden duodenuma geçemez. Pilor hem midenin boşalmasını düzenler hem de duodenumdaki içeriğin mideye kaçışını önler(4-5).

2.1.1. Midenin Yapısı

Mide duvarı içten dışa doğru mukoza, submukoza, muskularis propriya, subseroza ve seroza olmak üzere beş tabakadan oluşur. Mukoza; yüzey epiteli, bez epiteli, ince düz kas liflerinden ibaret olan muskularis mukoza ve bağ dokusu elamanları ile elastik liflerden oluşan lamina propriyayı kapsar. Yüzey epiteli tek katlı uzun kolumnar tip olup midenin iç yüzünü tamamen örter. Yüzey epiteli kardiya bölgesinde özofagusun çok katlı squamöz epiteli ile düzensiz ve zikzaklı bir sınır yapar. Bu sınıra skuamokolumnar bileşke, gastroözofagiyal bileşke veya Z-çizgisi denir. Pilorda ise mide mukozası ince barsak mukozası ile devam eder.

Mide mukoza hücrelerinin %44' ünü esas hücreler, % 40'ını mukus hücreleri, % 13'ünü pariyetal hücreler ve % 3'ünü endokrin hücreler oluşturmaktadır.

Submukoza gevşek bağ dokusu elemanları, elastik lifler, geniş bir damar, sinir ve lenfatik ağdan oluşmaktadır. Anastomoz açısından en güçlü tabaka submukozadır. Muskularis propriya (müsküler tabaka) dışta longitüdinal, ortada sirküler ve içte oblik şekilde dizilen üç kas tabakası halindedir. Midenin üst kısımlarında her üç tabaka da mevcuttur. Korpusda ise iç ve dış kaslar zayıflar. Sadece orta tabakayı oluşturan sirküler kas lifleri mideyi tamamen sarar. Bu sirküler lifler antrumda ve pilorda daha da kuvvetlenerek pilorik sfinkteri oluşturur. Antrumda yemeklerin öğütülmesi, karıştırılması ve gıda parçacıklarının duodenuma kontrollü geçişi bu sayede gerçekleşir.

Otonomik motor aktiviteyi düzenleyen pace maker hücreleri olan Cajal'ın interstisyel hücreleri muskularis propriyadaki kas hücreleri ile sinir sonlanmaları arasında kontak görevi görürler. Bu hücreler myenterik pleksus ve sirküler kas içinde yer alırlar. Mideyi saran sirküler lifler duodenumda devam etmez. Midenin sirküler adaleleri duodenumun sirküler adalelerinden ince fibröz bir bağ dokusu ile ayrılır. Subseroza kas tabakası ile seroza arasındaki fibro-adipöz dokudan oluşan tabakadır. Seroza tabakasını visseral periton oluşturur.

2.1.2. Midenin Arterleri

Mide, kan damarları açısından zengin bir organdır. Tüm arterleri çölyak trunkusdan çıkar. Yaklaşık 1cm uzunluğunda olan çölyak trunkusun çapı ortalama 1-2cm'dir. Sol gastrik arter, splenik arter ve ana hepatik arter olmak üzere üç dala ayrılır. Midenin arterleri esas itibariyle sol gastrik arter (a.gastrica sinistra), sağ gastrik arter (a.gastrica dekstra), sol gastroepiployik arter (a.gastroepiploica sinistra), sağ gastroepiployik arter (a.gastroepiploica dekstra) ve kısa gastrik arterler(a.gastricae breves) dir.

2.1.3. Midenin Venleri

Mide venleri genellikle arterlere eşlik eder ve midede arterlere benzer dağılım gösterirler. Sol gastrik ven (v.gastrica sinistra), sağ gastrik ven (v.gastrica dekstra), sol gastroepiploik ven (v.gastroepiploica sinistra), sağ gastroepiploik ven (v.gastroepiploica dekstra) ve kısa gastrik venler (v.gastricae breves) dir.

2.1.4. Midenin lenf kanalları ve lenf nodları

Mukozada başlayan lenfatik damarlar önce submuköz lenfatik ağlarını, sonra adale tabakasını delerek subseröz ağlarını ve serozayı da delerek mide dışı lenf yollarını meydana getirirler. Mide dışı lenf yolları mide arterlerine komşu olarak seyreder. Mide dışı lenfatik kanallar hemen midenin yakın çevresindeki lenf nodlarına, oradan mide arterleri etrafındaki lenf nodlarına, daha sonra çölyak ve en sonunda aort çevresindeki lenf nodlarına ulaşır. Midenin üst kısmı ve kardiyanın submukozal lenf ağı ile Özofagusun alt kısmının submukozal lenf ağı arasında yaygın anastomozlar mevcuttur. Buna karşılık Antrum ve pilor bölgesindeki submukozal ağ duodenumda devam etmez. Mide proksimal kanserleri submukozal yayılım ile özofagusu tutarken antrum tümörleri duodenuma ilerleyemezler. Duodenumun tutulması bazen subseröz lenfatik ağ yolu ile gerçekleşebilir.

Perigastrik Lenf Nodları: Perigastrik lenf nodları N1 grubu olarak adlandırılmaktadır. Bunlar Japon literatürüne göre 1 'den 6'ya kadar olan; Sağ parakardiyal lenf nodları (1), Sol parakardiyal lenf nodları (2), Küçük kurvatur lenf nodları (3), Büyük kurvatur lenf nodları (4), Suprapilorik lenf nodları (5), İnfrapilorik lenf nodları (6) dır.

Perivasküler Lenf Nodları: Perivasküler lenf nodları N2 grubu lenf nodları olarak adlandırılmaktadır. Bunlar 7'den 11'e kadar olan; Sol gastrik arter lenf nodları (7), Hepatik arter lenf bezleri (8), Çölyak lenf nodları (9), Splenik hilus lenf nodları (10), Splenik arter lenf nodları (11) dır.

Midenin Diğer Lenf Nodları: Perivasküler lenf nodlarından daha ilerdeki; Hepatoduodenal ligament lenf nodları (12), Retropankreatik lenf nodları (13), Mezenterik kök lenf nodları (14), Orta kolik arter lenf nodları (15), Paraaortik lenf nodları (16) dır.

2.1.5. Midenin Sinirleri

Midenin innervasyonu sempatik ve parasempatik sinirler aracılığıyla olur. Parasempatik lifleri vagal sinirden, sempatik sinir lifleri çölyak pleksusdan gelir. Sol vagusun dalları torakal özofagusun ön yüzünde, sağ vagus dalları ise arka yüzünde dağılarak ön ve arka özofagiyal pleksusları oluştururlar. Bu pleksustan yeniden doğan ön ve arka vaguslar özofagusa komşu olarak seyreder ve özofagiyal hiyatustan karına girerler.

2.2. MİDE KANSERİNİN TARİHÇESİ

Mide kanseri muhtemelen insanoğlunun eski çağlardan bu yana yakalandığı bir hastalıktır. Ancak midenin geniş lümenli bir organ olması ve bu nedenle bulgularının çok ileri devrelere kadar baskılanabilmesi, mide kanserinin tanısını, tedavisini ve hakkındaki bilimsel gelişmeleri geciktirmiştir. İlk olası mide kanseri olgusuna M.Ö. 1660 yıllarında yazılan George Ebers yazıtlarında rastlanmaktadır (6).

M.Ö. dördüncü yüzyılda Yunanistan'da yaşamış olan Hipokrat, kanser hastalığının davranışını yengece benzeterek, yengeç anlamına gelen 'karkinos' kelimesini ilk kez kullanan bilgindir. Mide kanserinin tanımına benzer ilk bulgulara ise onbirinci asırda yazılmış olan İbn-i Sina Tıp Ansiklopedisinde rastlanmaktadır (6).

1774 yılında Lyon Üniversitesi doktorlarından Pyrile'nin "Dissertatio Academica De Cancro" başlıklı makalesi modern onkolojinin habercisi oldu. Ancak 1835 yılında Dr. Cruveilhier, midenin selim ve habis ülserlerinin tanımını yapıncaya kadar, mide kanserleri hakkında ciddi bir bilgi yoktu (6).

Cruveilhier'in mide kanserinin anatomik tarifi ve 1839 yılında Bayle'nin mide kanserinin klinik tablosunu tarif etmesi bu konuda yeni bir dönemi başlatmış olmakla birlikte, mide kanserinin resmi hikâyesi bundan tam 40 yıl sonra, 9 Nisan 1879'da Fransız cerrah Jules Emile Pean'ın mide kanseri nedeniyle ilk mide rezeksiyonunu yapmasıyla başladı. Hasta postoperatif beşinci gün öldü. 6 Kasım 1880'de Ludwig R.Von Rydgier mide kanseri nedeniyle ikinci kez mide rezeksiyonu yaptı. Bu hasta ise ameliyat gecesi öldü. Nihayet 22 Ocak 1881 günü Viyanalı cerrah Theodor Billroth mide kanserli hastasına subtotal rezeksiyon ve gastroduodenostomi ameliyatını ilk kez başarıyla yaptı. Billroth, anastomozu daha sonraları gastrojejunostomi şeklinde de yaptı ve 14 yıl içinde vaka sayısını 257'ye çıkardı (7-8).

Literatüre subtotal gastrektomi sonrası gastroduodenostomi Billrot l, subtotal gastrektomi ve gastrojejunostomi ise Billroth II ameliyatı olarak yerleşti.

1896 yılında 32 yaşındaki Zürihli cerrah Kari Schlatter ilk total gastrektomiyi gerçekleştirdi (9). Schalatter'in başarısının dünyada duyulması ile total gastrektomi üç değişik tekniklerle yapılmaya başlandı. San Fransisko'dan Dr.Brigham ve Boston'dan Dr.Richardson total gastrektomiyi başarı ile gerçekleştirdiler. Türk Cerrahlardan M.Kemal Öke 1925 yılında pilor tümörü için gastrektomi olgusunu yayınladı. Dr.Burhanettin Toker 1930 yılında, Dr.Cafer Kankat 1937 yılında, Dr Kazım İsmail Gürkan 1941 yılında ve Dr.Bedii Gorbon 1951 yılında mide kanserinde gastrektomi ile ilgili sonuçlarını yayınlayarak mide cerrahisinin ülkemizde gelişmesine katkıda bulunmuşlardı (6).

Son yüzyılda özellikle Japonlar mide kanseri konusunda çok uğraş vermiş olup bu hastalığın tedavisinde ve erken teşhisinde dünyayı şaşırtacak kadar ilerlemeler sağlamışlar ve liderliği ele geçirmişlerdir. İlk mide kanseri araştırma grubunu Japonlar oluşturmuştur. Japon Mide Kanseri Araştırma Grubu 2001 yılında mide kanseri hastalarında uygulanacak rehberler yayınladılar ve bu rehberler, batılı cerrahlar tarafından da kabul edildi. Böylece mide kanserinde uygulanacak tedavi konusunda dünyada ortak bir dil oluştu.

1967 yılında Uluslararası Kansere Karşı Birlik (UIAC) tarafından TNM evreleme sistemi kabul edildi. Yaklaşık 30 yıllık kullanımdan sonra 1997 yılında revizyona tabi tutulan TNM evreleme sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.3. MİDE KANSERİNİN ETYOLOJİSİ VE PATOGENEZİ

Lauren yaptığı sınıflamada mide kanserini histopatolojik özelliklerine göre, farklı epidemiyolojik ve prognostik özellikler gösteren intestinal ve diffüz tip mide kanseri olmak üzere ikiye ayırmaktadır(10). İntestinal tip, primer olarak midenin distal bölümünü tutan ve intestinal bezlere benzeyen tübüler yapılardan oluşan tümörlerdir. Epidemiyolojik olarak intestinal 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 sosyoekonomik düzeyi düşük popülâsyonlarda daha sık görülür. Erkek/kadın oranı 2/1 olup, görülme sıklığı 7. dekadda doruğa ulaşmaktadır (11,12).

İntestinal tip Mide kanseri'nin Correa sekansı olarak da bilinen çok basamaklı bir süreçte geliştiğine inanılmaktadır. Burada invaziv kanser gelişimi öncesinde atrofik gastrit, metaplastik ve displastik lezyonlar mevcuttur. Genellikle olayların sekansını tetikleyen ve götüren persistan H. pylori enfeksiyonudur. Ancak enfekte insanların çok az bir kısmında kanser gelişir. Mide de kanser riskine neden olan premalign lezyonların varlığı bu hastaların taranması ve izleminde önemli bir bilgidir. Rapor edilen Mide kanserine ilerleme oranları çok değişkendir ve displazi için bile yıllık Mide kanseri oranları %0 dan %70 e kadar değişen oranlarda rapor edilmektedir. Anlaşılacağı üzere bu tip lezyonları olan hastaların izlem stratejileri çok tartışmalıdır.

De Vries ve ark. Hollanda Milli Histopatoloji kaynaklarını kullanarak Mide kanseri riski ve izlem pratiğini 1991 ve 2004 arasında, premalign mide lezyonu tanısı koyulan Flemenk hastalar arasında (n:92,250) araştırmışlardır (13). İzlem datası Aralık 2005'e kadar toplanmış ve değerlendirilmiştir. Histolojik bulguların

%67'sinin intestinal metaplazi, %24'ünün atrofik gastrit, %8'inin hafif ve orta derecede displazi ve %0,6'sının ise ağır displazi gösterdiği rapor edilmiştir. İlk tanıdan 5 yıl sonra yıllık Mide kanseri riski atrofik gastrit için %0,1, intestinal metaplazi için %0.25, hafif ve orta derecede displazi için %0,6 ve ağır displazi için %6 bulunmuş. Bu sayılar nispi Mide kanseri riskinin bu çalışmada ağır displazide atrofik gastrit hastalarına göre yaklaşık 40 kat fazla olduğu görülmüştür.

Mide duvarını infiltre eden ve kalınlaştıran diffüz tip kanser ise glanduler ya da duktüler yapı oluşturmaksızın birbirlerinden ayrı duran, çoğunluğu müsinöz tipte (taşlı yüzük hücreleri) malign hücre tabakalarından oluşmuştur. Diffüz tip kanser, intestinal tipin tersine midenin proksimalinde yerleşme eğilimi göstermektedir (11). Dünyanın her yerinde aynı sıklıkta bulunup, çevresel faktörlerden belirgin bir etkilenme göstermeyen bu kanser sıklıkla aile içi bir dağılım göstermektedir. İntestinal tipe göre daha genç yaşta ortaya çıkan diffüz tip kanserde yaş ortalaması 48 olarak tanımlanmıştır (14). Kadınlarla erkekler arasında bu tip kansere yakalanma oranı birbirine yakın olup kadınlarda daha fazladır. Diferansiyasyon derecesi düşük olduğu için, intestinal forma kıyasla daha kötü bir prognoza sahiptir. Non-metaplazik mide mukozasında gelişen displazinin diffüz tip kanser için öncü lezyon olabileceği ileri sürülmüş olmakla birlikte, bu tip kanserde tanımlanmış bir öncü lezyonun bulunmadığı düşünülmektedir (15). Yüksek riskli popülâsyonlarda intestinal tipin insidensi diffüz tipten daha fazla olmakla birlikte, düşük riskli bölgelerde her iki tip kanserin insidensleri birbirine yakındır (16).

İntestinal tip mide kanseri yüksek riskli coğrafik alanlarda baskındır ve H. pylori infeksiyonu ile korelâsyon gösterir. Diffüz tip mide kanseri bunun tersine daha uniform dağılmıştır ve H. pylori prevelansı ile ilişkisizdir. Mide mukozal yüzeyinin altında gelişmesine bağlı olarak diffüz tif genellikle ilerlemiş bir evrede tanı alır ve buna bağlı olarak kötü bir sonucu vardır. Daha fazla olarak kötü diferansiye karsinom ve taşlı yüzük hücreli karsinom (SRCC) gruplarına ayrılabilir. SRCC kötü diferansiye karsinoma ilerleyebilir (17). Mide kanserinin tüm dünyada azalan insidansına rağmen SRCC formundaki diffüz mide kanseri insidansı artmaktadır.

Distal mide kanserlerinin tersine, kardiya ve gastroözofageal bileşke kanserleri, sosyoekonomik düzeyi yüksek popülâsyonda daha yaygın görülmektedir. Günümüzde gelişmiş ülkelerde distal tip mide kanserlerinin insidensinde gözlenen belirgin azalmanın tersine, proksimal mide ve gastroözofageal bileşke kanserlerinin insidensinde artış saptanmaktadır(18). Epidemiyolojik veriler, yalnızca kardia dışı kanserlerin H. pylori ile bağlantılı olduğunu, kardia kanserlerinin ise bu infeksiyonla ne pozitif ne de negatif bir ilişki sergilediğini göstermiştir(19.20.21). Histolojik olarak görünümleri benzer olabilmesine rağmen, bu iki farklı anatomik bölgenin kanserlerinin etyolojik faktörleri ve olasılıkla da patogenezlerinin farklı olduğu düşünülmektedir (22).

2.3.1. 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, diffüz tipte ise erkek kadın oranı eşittir. Bu erkek baskınlığı mide kanser insidensinin yüksek veya düşük olduğu tüm ülkeler için geçerlidir (23.24).

2.3.2. Genetik yapı

Kan grubu A olan kişilerde diğer kan gruplarına sahip kişilere göre mide kanser riski daha yüksektir. Bu özellikle diffüz tip için geçerlidir. Bunun aile hikâyesi ve taşınan onkogenlerle ilgili olduğu sanılmaktadır. Buna karşın tek yumurta ikizlerinde mide adenokarsinomu gelişme riski aynı değildir (23).

2.3.3. Sosyoekonomik durum

Midede kanser gelişme riski, düşük sosyo ekonomik düzeyli ülkelerde gelişmiş ülkelere göre iki kat daha fazladır. Bu daha çok intestinal tip için geçerlidir. ABD'de

siyahlarda Mide kanseri riskinin beyazlara göre iki kat yüksek olmasının düşük sosyoekonomik duruma bağlı olduğu ileri sürülmektedir (25).

2.3.4. Diyet

Beslenme ile mide kanseri arasında direkt ve önemli bir ilişki vardır. Mide kanserlerinin aşırı tuzlu beslenme ile ilişkili olduğu ve taze sebze - meyve ile beslenmenin de koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (26). Gıdalarla alınan nitrat ve nitritlerin midede intestinal metaplaziye yol açarak mide kanseri oluşturdukları deneysel olarak gösterilmiştir. Gıdalarla bu zararlı maddelerin alınımının önlenmesi, özellikle yüksek riskli bölgelerde önleyici bir tedbir olabilir. Bol sebze ve meyve ile beslenenlerde kanserin gelişme oranı düşmektedir. Az tüketenlerde ise mide kanser oranının yüksek olduğu bildirilmektedir (26.27). Yine diyet bazında yüksek oranda karbonhidrat alımının da mide kanseri gelişimine katkı sağladığı vurgulanmaktadır.

2.3.5. Sigara

Sigara içimi ile ilgili veriler çelişkilidir. Bir kısım araştırmacı sigaranın mide kanserini arttırdığını ve bunun doza bağlı olduğunu, bir kısım araştırmacı dozla ilgisi olmadığını belirtirken yine bazı araştırmacılar da sigara ile mide kanseri arasında ilişki olmadığını belirtmektedirler (28).

2.3.6. Meslek

Bazı meslek ve iş kollarında mide kanseri insidensi yüksektir. Maden, kömür, tekstil, seramik, metal endüstrisi, boya sanayisi, kimyasal, lastik ve petrol sanayisi gibi iş kollarında çalışan işçilerin mideleri, asbest, poliaromatik hidrokarbon ve nitroz komponetleri gibi karsinojenlere maruz kalmakta ve karsinojenlerin etkisi ile bu kişilerin midelerinde kanser gelişmektedir (29).

2.3.7. Radyasyon maruziyeti

Radyasyonun kanserojen etkisi olduğu bilinmektedir. Hodgkin hastalığı nedeniyle radyoterapi alan çocuklarda 12-14 yıl sonra mide kanseri gelişmiştir (30).

2.3.8. Helicobacter pylori gastriti

Dünya Sağlık Örgütü 1994 yılında, Helicobacter pylorinin özellikle intestinal tip mide kanseri gelişiminde karsinojen bir bakteri olduğunu kabul etmiştir (31). H. pylori pozitif olanlarda mide kanseri 3-6 kat daha fazladır. Atrofik gastritlilerin % 15'inde 15 yıl içinde mide kanseri gelişebilmektedir. Bu nedenle atrofik gastrit prevelansının yüksek olduğu bölgelerde mide kanser prevelansı da yüksektir. H. pylori mide asit sekresyonunu arttırarak gastrite ve ülsere neden olan bir bakteridir. Hastaların % 1'inde ise, ciddi süperfisyel atrofik gastrit gelişerek asit azlığı olur. Bu yüzeyel gastrit, lökositlerin lamina propriya üzerinde birikmesine ve özellikle glandların boyun epitelinin lökositik invazyonuna yol açar. Sonuç olarak hücrelerin DNA'sında genomik hasar oluşmakta ve zamanla mide kanseri gelişmektedir (32).

2.3.9. Multifokal atrofik gastrit

Epidemiyolojik olarak önemli bir faktör de multifokal atrofik gastrittir. Multifokal atrofik gastrit genellikle H. pylori, aşırı tuz alımı, nitrat alımı, sigara, taze meyve ve sebzeden fakir beslenme ile birliktedir (26,33). Yüksek riskli grupta H. pylori insidensi % 75'e vardığı halde kanser görülme riski % 5'den azdır. Bu sonuç kanser gelişiminde H. pylorinin tek başına rol oynamadığını göstermektedir (34). Multifokal gastrit zemininde gelişen kanser tipi intestinal tiptir ve gelişmekte olan ülkeler de sayılan risk faktörlerinin azalmasına paralel olarak insidensi hızla düşmektedir (35).

2.3.10. Epstein-Barr virüs infeksiyonu

Mide kanseri saptanan kişilerde Epstein-Barr virüsü (EBV) antikoru saptanması dikkati çekmiştir. Yapılan bir çalışmada; EBV antikoru pozitif olan sağlıklı kişilerin, EBV negatif olanlara göre mide kanserine yakalanma riski yaklaşık 4 kat fazla bulunmuştur (36). EBV virüsü ile infekte mide kanserlerindeki lenfosit ve özellike aktif T-hücre infiltrasyonu bu kanserlerin lenfomadan ayrımını güçleştirmektedir (37).

2.4. MİDE KANSERİNİN MOLEKÜLER TEMELİ VE GENETİK FAKTÖRLER

Mide kanseri tüm dünyada kansere bağlı ölümlerin önemli bir nedenidir. Ancak mortalite oranları, survideki iyileşme ve azalmış insidans nedeni ile birkaç dekattır azalmaktadır (38). Mide kanseri karsinogenezi çok basamaklı ve çok faktörlü, çevresel ve genetik faktörlerin kompleks ilişkisi ile sonuçlanan bir süreçtir. Çevresel faktörler arasında helikobakter pylori enfeksiyonu, sigara içimi, düşük meyve ve sebze alımı, fazla et ve tuz tüketimi ve yiyeceklerin uygun koşullarda saklanmaması yer alır (39). Diğer taraftan mide kanseri için pozitif aile hikâyesi en yüksek risk faktörü olarak rapor edilmiştir(40). Aile çalışmalarında mide kanserli hastaların birinci dereceden yakınlarında gözlenen mide kanseri riskinin 2-3 kat artışı H. pylori infeksiyonunun ailesel kümeleşmesi ile açıklanmaktadır (41).

Değişik genetik yolların mide kanserinin diffüz ve intestinal alt tiplerine neden olduğu gösterilmiştir(42). Bu durum kanser yatkınlığında genetik faktörlerin fonksiyonel rollerini kanıtlamaktadır. Ailesel kümeleşmenin yanı sıra mide kanserine kişisel genetik yatkınlık birçok geni içermektedir (43). Bu genlerin etkileri küçük olabilir ancak birkaç küçük etkinin kombinasyonu mide kanserinin geniş bir topluma yansıyan riskine neden olur. Son on yılda mide kanseri ile polimorfizmler arasındaki ilişki toplum bazlı genetik çalışmalarında incelenmiştir. Amaç gen-gen, gen-çevre ilişkilerinin araştırılmasıdır. Herediter genetik varyantların tanımlanması, mide

kanseri için risk faktörü olduğu bilinen çevresel faktörlerin etkilerini değiştirebilir (44).

Polimorfizimlerinin mide kanseri ile ilişkisinin çalışıldığı genleri rollerine göre aşağıdaki kategorilere ayırabiliriz.

- Mide mukozasını hasar verici ajanlardan korumada görevli genler
- İnflamatuvar yanıtta rol alan genler (IL genleri)
- Karsinojenlerin detoksifiksyonunda rol alan genler (GSTT1,GSTM1,CYP2E1)
- Folat metabolizmasında rol alan genler (MTHFR)
- DNA nın sentez ve onarılmasında rol alan genler (p53)(45-46)
- Gen ekspresyonun, hücre adezyonunun ve hücre siklusunun düzenlenmesinde rol alan genler (E-cadherin)(41-47)

2.4.1. İnterlökin 1 (IL-1)

İnflamatuvar süreçte rol alan birçok genin mide kanseri ile ilişkisi incelenmiştir(47-48). Kronik gastritis, intestinal tip mide kanseri gelişiminde erken fazlardan biridir ve immün modulasyon yanıtı açısından incelenmiştir (49). Özellikle proinflamatuvar IL1α ve IL1β sitokinleri ve endojen reseptör antagonistleri olan IL-1RA'ni kodlayan IL-1 kümesi içindeki IL-1A, IL-1B ve IL1RN genleri en geniş çalışılanlardır (50).

Mide kanseri ve polimorfizmler arasındaki en sabit ve güçlü birliktelik IL-1β genindedir. IL-1β proenflamatuar bir sitokindir ve midede asit sekreyonunu inhibe eder. Bu genin bazı polimorfizmleri H.pylori infeksiyonu varlığında kardiya dışı Mide kanseri riskinin artmasına neden olur. Tu ve arkadaşları IL-1β nin prokarsinojenik etkilerinin olası mekanizmasını aydınlatan transjenik bir fare modelini yayınlamışlardır (51). Bu yazıda IL-1β nin mideye spesifik ekspresyonunun gastrik enflamasyona ve sonunda intramukozal adenokarsinomunda da dâhil olduğu neoplastik değişikliklere yol açtığı ve bunun helikobakter felis ile enfekte farelerde daha ağır olduğunu belirtmişlerdir. Dahası bu fare modelinde

myeloidden elde edilen supresör hücrelerin karsinojenik kaskada katkıda bulundukları, T ve B hücrelerinin ise bu fenomen için gerekli olmadığı görülmüştür. İlginç olarak bu hücrelerde ki IL-1β; aktive nükleer faktör–kappaB (NF-kB), IL-6 ve TNF-α artışına neden olmuştur. Myeloidden gelen supresör hücrelerin immün yanıta, anjiogeneze ve tümör invazyonuna katkıda bulunabilecekleri öne sürülmektedir. Bu çalışma göstermektedir ki, midede inflamasyon ve karsinogenezi tetiklemek için IL-1β tek başına yeterlidir.

IL-1β genini üç polimorfizminin IL-1β salınımını arttırdığı gözlenmiştir. Bunlar IL-1β-511T, IL-1β-31C, IL-1β+3495T dir. Transkripsiyonel başlangıçtan -511 ve +3954 baz çifti pozisyonunda C→T transizyonları ve -31 baz çiftindeki T→C transizyonu, IL-1β-31C/T de DNA-protein ilişkisini etkileyen bir TATA box polimorfizmidir(52). Mutant alellerin frekansı Kafkaslarda %33, Asyalılarda %50 dir. IL-1β+3954T frekans dağılım oranları Asyatik ve Hispanik toplumlarda %5-10 arasında ve Kafkaslarda %23 tür (53).

İnterlökin 1 reseptör antagonisti (IL-1RA) önemli bir antiinflamatuar sitokindir. IL-1'in hücre yüzey reseptörüne bağlanmasını engeller ve etkilerini modüle eder. İnsan interlökin 1 reseptör antagonist geninin (IL-1RN) intron 2'sinde değişik sayıda 86-bp sekansının tekrarlarından oluşan değişen sayılarda tekrar (VNTR) polimorfizmi tespit edilmiştir. Tekrar sayısının iki ile altı olduğu beş alellik varyant tanımlanmıştır(54). IL-1RN2 varyant alel taşıyıcıları yüksek düzeyde IL-1β üretmektedir(55.56). IL-1RNVNTR bölgesinin 3 protein bağlayıcı bölgesi vardır. Bu olası bir fonksiyonel öneme işaret ederken, IL-1RN2 aleli ve artmış IL-1β ekspresyonu arasındaki ilişkiden sorumlu mekanizma bilinmemektedir. IL-1RN2 taşıyıcı durumundaki sıklık dağılımı Asyalılarda %6, Kafkaslarda ve Hispaniklerde %27 ile 30 arasındadır (53).

2.4.2. İnterlökin 8 (IL-8)

Lökosit kemotaktik aktivite ile tanımlanan akut inflamatuvar reaksiyonların başlatılması ve amplifikasyonunda rol alan, kronik enflamatuar süreçlerin devamında

rol alan bir sitokindir (57). IL-8 sitokini H. pylori gastrik inflamatuvar yanıtı immün hücrelerin seçilmesi, aktivasyonu yolu ile ve mide mukuzal hücreler için güçlü bir büyüme faktörü olan reg protein ekspresyonunun sitimülasyonu yolu ile yapmaktadır (58). Ek olarak IL-8'in tümörojenik ve proanjiogenik özellikleri tanımlanmıştır (59). IL-8'i kodlayan gen birçok fonksiyonel polimorfizm gösterir. Bunların onbeş tanesi tanımlanmıştır (60). Bu polimorfizmlerin arasında transkripsiyon başlangıç kesimindeki IL-8-251T/A'nın varlığı IL-8 üretiminde çok fazla etkilidir ve IL-8 promoterin transkripsiyonel aktivitesini arttırdığı in viitro çalışmalarda gösterilmiştir (61,62). 251A mutant aleninin sıklığı değişik etnik gruplarda farklılık gösterir. Avrupalılarda %38-51 arasında iken (63-64), Asyalılarda %30-42 arasındadır(65-66). IL-8-251A ve mide kanseri üzerine yakın zamanda yapılmış olan bir metaanaliz 8 olgu kontrol çalışmasını içermiştir. Kombine analizde -251A aleli taşıyanlar için, normal genotipi taşıyanlara göre farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. Bu çalışmada heterojenite çıkarıldığında ve varyant alele taşıyıcıları için mide kanserinde anlamlı olarak artmış risk bulunmuştur.

2.4.3. Sitokrom P450 2E1 (CYP2E1)

P-450 sitokrom süper ailesinin bir üyesidir ve doğal olarak etanol indükte edilebilir faz 1 enzimidir. N-nitrozaminler gibi düşük moleküler ağırlıklı birleşiklerin metabolik aktivasyonunda ve alkol metabolizmasında rol alır(67-68). N-nitrözaminler endojen olarak mide içinde oluşurlar. Sigara ve bazı diyetsel bileşikler gibi değişik çevresel faktörlerde mevcuttur (69). CYP2E1 geni neredeyse her zaman eksprese edilir (70).

Genin 5'flanking bölgesindeki (Pstl, Rsal) nokta mutasyonu genin transkripsiyonel aktivitesini bozar (67). Oluşan c2 varyant aleli (Kafkasların %7 sinde, Asyalıların %36 sında)(71-72) daha fazla protein üretimi ile birliktedir. CYP2E1 polimorfizmi ve mide kanseri arasındaki ilişki ilk olarak Kato ve arkadaşları tarafından 1995 de incelenmiştir (73). CYP2E1 pstl/rsal ve mide kanseri arasında tek metaanaliz 2005 ten önce yayımlanana 13 çalışmayı içermektedir. Bu analizde mide kanser riski c2 varyant alel taşıyıcıları için anlamsız çıkarken, c2

homozigotları doğal c1 homozigotlar ile karşılaştırıldığında sonuç anlamlı bulunmuştur. Asyalılar arasında yapılan yüksek kalitedeki çalışmalar hem c2 heterozigotları arasında hem de c2 homozigotları arasında anlamlı artmış mide kanser riski göstermişlerdir. GSTM1 nul tipi olan CYP2E1 c2 homozigotları için her ikiside normal genotip taşıyan kişiler ile karşılaştırıldığında mide kanseri riski anlamlı bulunmuştur.

2.4.4. TNF-alfa (TNF-α)

İnterlökin genlerindeki polimorfizmlere ek olarak, tümör nekroz faktörü alfanın promotor bölgesindeki polimorfizmlerde mide kanseri açısından çok geniş çalışılmıştır. TNF-α aktive monosit ve makrofajlar tarafından üretilen bir sitokindir ve inflamatuvar yanıtta anahtar rol oynar. Birçok promotor polimorfizm tanımlanmış olsada birçok çalışma TNF-α-308G>A tek nükleotid polimorfizmine (SNP) odaklanmıştır.

Canedo ve arkadaşları TNF-α-308A aleli ve artmış mide kanseri riskini belirlemek için olgu kontrol çalışmasında proinflamatuvar TNF-α-308A aleli ve artmış mide kanseri riski en azından parsiyel olarak ilişki dengesizliğinden (henüz tanımlanmamış lokustan) etkilenmektedir sonucuna varılımştır(74). Bu çalışma tek SNP birliktelik çalımalarının haplotip bazlı yönelimlere uzatılmasının önemi üzeride durmaktadır.

2.4.5. IL-16

IL-16'nın monositlerden tümör ile ilgili inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını arttırdığı bilinmektedir (75). Gao ve arkadaşları IL-16 geninin SNP'si ile mide kanseri arasındaki ilişkiyi ilk inceleyenlerdir ve yazarlar IL-16 geninin 1155618 T/G polimorfizminin mide kanserine yatkınlığı arttırdığı sonucuna varmışlardır (75).

2.4.6. INFɣ

İnterferon gama gastriti başlatan en önemli Th1 sitokindir. INFGR1-56T aleli olan homozigot kişilerde INFGR1-56C homozigot aleli olanlara göre erken başlangıçlı mide kanseri gelişme riskinin dört kat arttığı gösterilmiştir (76).

2.4.7. SEPS1

Selenoprotein S endoplazmik retikulumda ve plazma membranında yer alan yeni bir selenoproteindir. Endoplazmik retikulum inflamatuvar yanıtın kontrolünde rol almaktadır. SEPS 1, hücreleri oksidadif hasradan ve apopitozisten korur ve çok çeşitli dokularda yaygın olarak eksprese edilir. Yakın dönemde SEPS1'in -10G>A protomer polimorfizminin IL-1β, IL-6 ve TNF-α gibi proinflamatuvar sitokinlerin plazma düzeylerini etkilediği gösterilmiştir. 574 kişiden oluşan bir Japon çalışmasında SEPS 1 geninin -105G>A polimorfizminin artmış intestinal tip mide kanseri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (77).

2.4.8. Gulutatyon S Transferaz (GST)

Gulutatyon S Transferaz genleri birçok çevresel karsinojenin de dâhil olduğu elektrofillere karşı hücre korunmasında rol alan ve oksidadif stresin endojen ürünlerine karşı savunmada rol alan bir gen ailesidir (78). Üç majör GST alt ailesi insanlarda yaygın olarak bulunur. GSTM (μ), GSTT (θ), GSTP (π). Bunların çakışan substrat özellikleri vardır(79-80). GSTT1 ve GSTM1 genleri homozigot delesyon (null genotip) polimorfizmi gösterirler. GSTP1 kodlama bölgesi (nükleotid +313'de A'dan G'ye geçiş) polimorfizmi gösterir ve bu da azalmış enzim aktivitesine neden olur. Bu varyantlardan birini taşıyan kişilerde enzim aktivitesi yoktur ve benzolpirenin aktive formu olan benzolpyrin-7,8 diol epoksit gibi karsinojenlere, etilenoksit ve diepoksibütan gibi küçük reaktif hidrokarbonlara daha hassastırlar. Bu durum çevresel faktörlerin indüklediği kanser yatkınlığına neden olabilir (81).

Tripathi ve arkadaşları GSTT1 gen delesyonu sıklığının mide kanserli hastalarda (diffüz tip) daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Kombine GSTM1 ve GSTP1 delesyon sıklıklarının analizi göstermiştirki her iki genin simultane delesyonu her iki genin varlığına göre 2-5 kat daha fazla mide kanseri riskine yol açmaktadır (82).

GSTM1: Glutatyon S transferaz M1 esas olarak karaciger, mide ve beyinde salınır. GSTM1 null fenotipi kişlerin %10 ile 60'ında olup Kafkaslarda ve Asyalılarda %50, Afrikalılarda %25 e kadar değişmektedir (83). GSTM1 null genotipi ile mide kanseri arasındaki ilişki ilk olarak Strange ve arkadaşları tarafından 1991 de araştırılmıştır (84). Bu çalışma GSTM1 ve mide kanseri arasındaki birlikteliği değerlendirken İngiliz litaretüründeki 15 pirimer çalışmayı içermektedir ve 2005 de yayımlanmıştır (83). Bu çalışmada Kafkaslarda mide kanseri için belirgin artmış bir risk görülmüştür.

GSTT1: Glutatyon S transferaz T1 esas olarak insan gastrointestinal sisteminde salınmıştır. GSTT1 null genotipi Kafkasların %13-31'inde ve Asyalıların %35-55'inde mevcuttur. GSTT1 nul fenotipi ile mide kanseri arasındaki ilişki ilk olarak Deakin ve arkadaşları tarafından 1996 yılında araştırılmıştır(85). Bu ilişkiyi araştıran iki metaanaliz 2006 da yayımlanmıştır. Saadat'ın metaanalizi 16 çalışmayı içermektedir. Saadat'a göre (86) etnisite, kontrollerin kaynakları, örnek boyutu ve sigara içimi durumu arasındaki katmanlı analizler Kafkasyalı alt grubunun istatistiksel olarak artmış kanser riskini göstermektedir. Bu durum Boccia tarafından da deteklenmektedir. Her iki meta analiz, analiz kontrol kökenine veya çalışma gücüne göre sınıflandırıldığında istatistiksel anlamlı bir birlikteliğin olmadığını rapor etmişlerdir. Ancak Boccia ve arkadaşları (87) analizi yüksek kalite çalışmalarla sınırladıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir birliktelik göstermişlerdir.

2.4.9. Metilentetrahidrofolat Redüktaz

MTHFR'ın iki fonksiyonel polimorfizmi (C677T ve A1298C) tanımlanmıştır(88). 677T alelini taşıyan kişilerin sıklığı Asyalılarda %50, Kafkaslarda %44 ve Afro

Amerikalılarda %23 tür. Sıklığı en az olan 1298C aleli Kafkasların %40 ında, Asyalıların %30 unda ve Afro Amerikalıların %30 unda mevcuttur. C677T mutant aleli için normal enzim aktivitesi ile karşılaştırıldığında heterozigotların (CT) %65 ve homozigotların (TT) %30 enzim aktivitesi varken, 1298CC homozigotlarının neredeyse %60 enzim aktivitesi vardır (88,89). MTFR 677 için TT genotipi olan kişilerde normal genotipi olanlara göre anlamlı olarak daha düşük plazma folat düzeyleri vardır. MTFR 1298 varyantları için bu bulgu çelişkilidir (90). Düşük folat düzeyleri DNA ya Urasil'in yanlış girişini tetikleyebilir, bu durum kromozomal kırıklara, mutasyonlara ve DNA hipometilasyonuna neden olabilir. Bu da bozumuş gen ekspresyonu ve DNA şekillenmesi ile sonuçlanır (91).

MTHFR 677T: Larrson ve arkadaşlarının 9 çalışmayı içeren meta analizinde(66) normal genotip homozigotlara göre MTHFR 677TT genotipi olan kişiler daha yüksek Mide adenokarsinom riski göstermektedirler. Çalışmalar arasında hiçbir anlamlı heterojenite tespit edilmemiştir. Zintzaras'ın yayımladığı 8 çalışmayı içeren meta analizde (92) 1584 olgu ve 2785 kontrolde benzer sonuçlar rapor edilmiştir. En az heterojenite resesif modelde görülmüştür ve TT kişilerin C alel taşıyıcılarına göre artmış Mide kanseri riski saptanmıştır. Mide kanseri yeri açısından sınıflandırma heterojeniteyi azaltmamıştır. Folat, alkol ve sigara açısından alt grup ilişki analizleri yapılamamıştır. Genel olarak toplu analizler göstermiştir ki MTHFR 677 TT kişilerinde Mide kanseri için anlamlı risk bulunmuştur.

2.4.10. P53

P53 tümör süpresör geni tüm kanser tiplerinde en çok mutasyona uğrayan gendir. Hücre siklusu regülâsyonunda rol alan bir transkripsiyon faktörünü kodlamaktadır. P53 hücre siklusunun durmasını ve apopitozisi indükleyerek tümör süpresör geni olarak çalışır. P53 birçok malign süreçte kötü prognozu gösteren bir markerdir. Bu genin inaktivasyon mutasyonları Mide kanserlilerin %38 ile 71'inde görülebilir(93). Ek olarak p53 mutasyonları intestinal metaplazide ve displaztik lezyonlarda gösterilmiştir. Bu genin inaktivasyonunun mide karsinogenezinde erken bir olay olduğu düşünülmektedir. P53 geni çok polimorfik olsada en az 13 tek nükleotid

polimorfizmi tanımlanmıştır (94). P53 exon 4 arg 72pro polimorfizmi mide kanseri ile ilşkili olarak en çok çalışılandır. Bu kodondaki arjinin ve prolin gibi tek bir baz çiftinde değişimle oluşan bir polimorfizm p53'e bağlı apopitozu ve kemoteropatik ajanlara olan hassasiyeti modifiye eder.

Mide kanserinde p53 geninin exon 4'ünde olan alterasyonlar ilk olarak Şheferd ve arkadaşları tarafından 2000 yılında araştırılmıştır. Bu çalışmada en ilginç kısım kodon 72 polimorfik kesiminin ırk ile anlamlı olarak değiştiğidir. Beyazların %64'ü siyahların %70'i Arg/Arg genotipindedir (95). P53 kodon 72 polimorfizmi ve mide kanseri arasındaki ilişki ilk olarak Hiama ve arkadaşları tarafından 2002 yılında araştırılmıştır (96). P53 exon4 arg72Pro polimorfizmi ve mide kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran bir metaanalizde 12 olgu kontrol çalışması incelenmiştir (97) kombine sonuçlarda mide kanseri olguları ve kontroller arasında genetik dağılım açısından anlamlı bir fark gösterilmemiştir.

2.4.11. P63-P73

P53 ile ilgili tartışmalı sonuçlar için olası bir açıklama p53 ailesinin p63 ve p73 gibi diğer proteinleride içermesidir. Bu proteinler p53 ile yapısal benzerdir ve apopitozis regülâsyonunda görev alan p53 hedef genlerini aktive eder. Senaryo biraz komplekstir. Çünkü p63 ve p73 proteinlerinin bazı alt formları p53'e karşı dominant negatif bir yapıda hareket edebilir. Wei ve arkadaşları yakın zamanda farelerde mide epetel hücrelerinin in vitro ve invivo H. pylori infeksiyonunun p73 proteinin upregülasyonuna yol açtığını göstermişlerdir (98). Bu sonuçlar göstermektedir ki p73 H. pylori infeksiyonu ile ilgili patogenezde önemli bir rol oynayabilir ve p73 genindeki bozulmalar mide karsinogenezinde rol alabilir.

2.4.12. E-cadherin

Moleküler düzeyde diffüz tip mide kanseri intestinal tip mide kanserinden hücrede adezyon molekülü ile ayırt edilebilir ki bu molekül E-cadherin dir. E-cadherin diffüz

tip mide kanseri gelişiminin çok erken döneminde downregüle olur ve bu durumun hastalığın başlangıcında bir rolü olduğu düşünülür. E-cadherin geni transmembranal bir glikoproteini kodlamaktadır. Esas olarak intersellüler adezyonun başlatılması ve devam ettirilmesi, hücre polaritesi ve epiteliyal dokuların normal yapısında rol alır (99). Aynı zamanda sitoplazmik katenin proteinleri ile hücre sinyalizasyonunda rol alır(100). E-cadherin gilikoproteini kalsiyuma bağlı intersellüler adezyon molekülü olarak epiteliyal hücrelerin yüzeyinde, hücre-hücre kontakt yerleşimlerinde aderans junctions olarak bilinen yerlerde bulunur (101). E-cadherinin adeziv fonksiyonunun kaybı tümör gelişimi ve progresyonunda insan epiteliyal kanserlerinin invaziv fenotipe dönüşmesini başlatan önemli bir basamaktır (102). Li ve arkadaşları C/A tek nükleotid polimorfizmini, E-cadherin gen promoterinin transkripsiyonel başlangıç kesimindeki -160 baz çiftindeki tek nükleotid polimorfizmi olarak tanımlamışlar. A alelinin vahşi tip C aleli ile karşılaştırıldığında tarnskripsiyonel etkinliğinin %68 azaldığını göstermektedir. Bu durum muhtemelen C alelinin varyant A aleline göre daha güçlü transkripsiyonel faktör bağlanma aktivitesinin olmasındandır. Bu nedenle -160 C/A polimorfizmi E-cadherin ekspresyonunu değiştirebilir ve epiteliyal kansere yatkınlığı arttırabilir. İnsan mutant-160 alelinin sılığı değişik etnik gruplarda ve coğrafik alanlarda değişmektedir (Avrupa ve Asyalılarda %0-61 oranındadır)(102).

2.4.13. EMT regülâtörü

Dfiffüz tip mide kanseri transformasyonunda fonksiyon kaybını açıkalayacak alternatif bir mekanizmada, epiteliyal mezenkimal transizyon (EMT) regülâtörü TWİST'in hedgehog (Hh) sinyallemesi ile çakışmasıdır (cross tolk). Ee sinyal aktivasyonu selektif olarak diffüz tip mide kanserinde oluşur. Hh sinyallenmesinin bloklanması mide kanseri hücrelerinin büyümesini engeller (103).

2.4.14. TGF- β

Transforme edici büyüme faktörü β multifonksiyonel bir sitokindir ve epitel hücre proliferasyonunun güçlü bir inhibitörüdür. Dahası TGF-β epiteliyal hücrelerin EMT'ye girmesini sağlayarak tümör büyümesini arttırabilir. TGF-β sinyalizasyonunun inhibisyonununda anjiogenezi arttırma kapasitesi nedeni ile diffüz tip mide kanserinde progresyon ve metastaz başlangıcını engellediği rapor edilmiştir (104).

2.4.15. Kök hücreler

Son yıllarda mide karsinogenezinde kök hücrelerin önemli rol aynadığı konusunda birkaç kanıt ortaya çıkmıştır. Houghton ve arkadaşları H. Pylori'nin neden olduğu inflamasyonun mide mukozasına kemik ilği kök hücrelerinin migrasyonuna neden olabileceğini göstermiştir. Bu hücrelerin burada mide kanseri hücre ailelerine dönüşebileceğini göstermişlerdir (105). Mc Donald ve arkadaşları mitokondrial DNA (mtDNA) mutasyonlarının normal insan mide korpus ünitelerindeki kök hücrelerde kendini gösterebileceğini rapor etmiştir. Bu durum tüm diferansiye olmuş kendilerinden gelişen hücrelere aktarılmaktadır (106). Mutasyonlu üniteler füzyon yolu ile yamalar oluşturacak şekilkde ayrılırlar ve her ünitenin paylaştığı aynı mutant bir mitokondriyal DNA genotipi vardır. Bu veri göstermiştir ki insan mide korpus üniteleri klonaldır ve çok sayıda multipotansiyel kök hücreleri içermektedir. Mutasyonların insan midesi içinde nasıl yayıldıkları konusunda ve alan kanserizasyonunun nasıl geliştiği konusunda kanıt göstermektedirler(106). Mezenkimal kök hücreler (MSCs), kendini yenileme kapasitesai yüksek olan hücrelerdir. Birçok tümörden izole edilmiştir. Mide kanserinde bir grup mezenkimal kök hücrelerin olup olmadığı sorusu ortaya atılmıştır ve ilk olarak MSC ler mide kanserli hastaların tümörlerinde izole edilmiştir (107). Tümüyle mide kanseri kök hücre biyolojisi alanındaki genişleme araştırmalar için yeni alanlar oluşturabilir ve kanserin tanısı ve tedavisinde etkisi olabilir.

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi kliniğine mide Adenokanseri tanısı ile ameliyat edilmek üzere yatırılan 61 hasta vaka grubu olarak ve yine Fakültemiz Genel Cerrahi Kliniği endoskopi ünitesine üst gastrointestinal sistem endoskopisi yaptırmak için başvuran 61 hasta kontrol grubu olarak, toplamda 122 hasta alındı. Vaka ve kontrol grubu hastalarına çalışmanın amacı ve içeriğini anlatan aydınlatılmış onam formları imzalatıldı. Çalışmayı kabul eden her hastaya anket formu doldurtuldu. Onam formları ve anket formu ektedir.

Çalışmaya dâhil edilme kriterleri

1. Onam formu imzalamış olmak
2. Anket formunu doldurmuş olmak
3. Vaka grubu için tümör histopatolojisinin adenokarsinoma olması
4. Kontrol grubunun normal histopatolojide olması
5. Diğer organ malignitelerinin bulunmaması

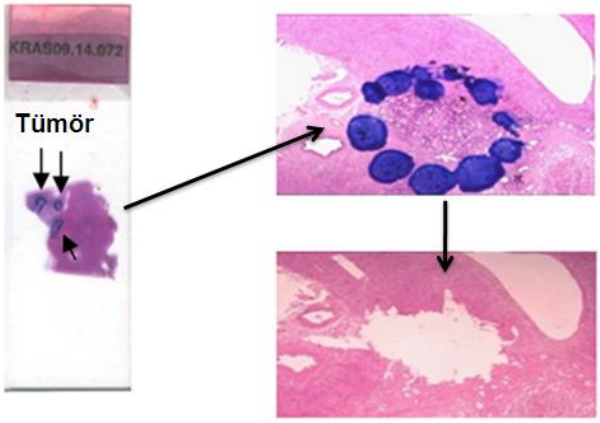
Çalışmaya dâhil edilmeme kriterleri

1. Onam formunu imzalamamış olmak
2. Anket formunu doldurmamış olmak
3. Kontrol grubunun benign histopatolojide olmaması
4. Vaka gurubu histopatolojisinin adenokarsinoma dışı olması
5. İkincil organ kanserinin bulunmsı

3.1. DNA İZOLASYONU

Vaka grubuna ait postoperatif rezeksiyon materyalleri rutin patolojik inceleme için %10 formol içinde patoloji bölümüne gönderildi. 24 saatlik formol tespitinden sonra rezeksiyon materyalleri makroskobik olarak değerlendirilip, histolojik degerlendirmeler için örnekleme yapıldı. Rutin mikroskobik inceleme sonunda tanı, grade ve evre belirlenecek materyal raporlandı. Belirlenen vakaların hematoksilen-eozin (H&E) boyalı preperatları arşivden çıkarılarak yeniden histopatolojik

değerlendirmesi yapıldı. Vaka grubunda tümör dokusu ve normal doku mikroskop altında işaretlendi (108,109).



Resim 1. H&E boyalı lam üzerinde, mikroskop altında tümöral bölgenin işaretlenmesi

Tümör DNA'sını elde etmek için rezeksiyon materyalinden rutin inceleme için hazırlanmış olan tümörlü parafin bloklardan 10 micron kalınlığında parafin kesitler alındı. İşartelenen boyalı preparatlara denk gelen boyasız kesitlerin deparafinizasyonu (Deparafinizasyon işlemi için lamlar ksilende 5 dakika ardından absolut etanolde 10 dakika bekletildi. Daha sonra kuruması için oda ısısında 5 dakika bekletildi) sonrasında mikroskop altında tümör diseksiyonu yapıldı. Mikroskop altında her seferinde temiz bistüri ucu kullanılarak kesitten disseke edilip temiz tüpe alındı. Dokunun az olduğu durumda birden fazla kesitte aynı bölge disseke edilerek doku miktarı artırıldı. Bunu takiben disseksiyon materyali DNA ekstraksiyonunun gerçekleşeği DNA ekstraksiyon buffer'ı içine alındı. DNA ekstraksiyon bufferi laboratuarda daha önceden tanımlanan (ref: mayr D) şeklinde hazırlandı.

Manuel yöntemle DNA izolasyonu için gerekli Hidroliz Buffer solüsyonların hazırlanışı:

0,5 M EDTA, pH 8,0

Malzeme	Konsantrasyon	Miktar	Son Konsantrasyon
EDTA	Ma: 372,2 g/mol	93 g	0,5 M
Distile Su		400 ml ye tamamlanır	
Katı NaOH	Ma: 40 g/mol	pH yı 8,0 a ayarlanır	
Distile Su		500 ml ye tamamlanır	
Otoklavlanır (ya da filtreden geçirilir)			

1M Tris, pH 8,5

Malzeme	Konsantrasyon	Miktar	Son Konsantrasyon
Tris-HCL	Ma: 157,6 g/mol	78,8g	1 M
Distile Su		400 ml ye tamamlanır	
NaOH	1M	pH yı 8,5 a ayarlanır	
Distile Su		500 ml ye tamamlanır	
Otoklavlanır (ya da filtreden geçirilir)			

Hidrolizbuffer solüsyonunun hazırlanışı:

Malzeme	Konsantrasyon	Miktar	Son Konsantrasyon
1 M Tris-HCL	1 M	5 ml	50 mM, pH 8,5
0.5 M EDTA	0,5 M	0.2 ml	1 mM pH 8,0
Tween-20		0.5 ml	0,5 % (v/v)
Distile Su		100 ml ye tamamlanır	
Alikotla ve -20 °C de saklanır, çözüldükten sonra tekrar dondurulmaz			

Blokta az sayıda tümör hücresi bulunması durumunda ise lazer mikrodiseksiyon aleti kullanılarak elde edilen hücrelerden "QIAamp DNA FFPE T tissue kit (Qiagen)" kiti kullanılarak DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi (108, 109).

Qiagen QiaAmp DNA Micro Kit ile DNA İzolasyonu:

Lazer mikrodiseksiyonla elde edilen örneklerden DNA izolasyonu için aşağıdaki protokol takip edildi (109):

- 0.2 ml'lik pcr tüpüne alınan mikrodiseke örneğin üzerine 15 µl Buffer ATL, 10 µl Proteinaz K eklendi ve 15 sn vortexlendi.
- Tüp inkübatöre yerleştirildi ve 560C'de 16 sa. inkübe edildi.
- 25 µl Buffer ATL, 50 µl Buffer AL eklendi ve 15 sn vortekslendi.
- 50 µl soğuk absolut etanol eklendi. Dikkatlice karıştırılıp 15 sn vortekslendi.
- 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Spin yapıldı.

Lizat, membrana değmeden "QIAamp minElute Coloumn"a aktarıldı. 8000rpm (6000g)'de 1 dk santrifüj edildi. Kolon temiz collection tüpüne aktarıldı.

Membrana değmeden 500 µl Buffer AW1 eklendi. 8000 rpm (6000g)'de 1 dk santrifüj edildi. Kolon temiz collection tüpüne aktarıldı.

Membrana değmeden 500 µl Buffer AW2 eklendi. 8000 rpm (6000g)'de 1 dk santrifüj edildi. Collection tüpünün içindeki sıvı döküldü ve tekrar kolona yerleştirildi.

Membranın tamamen kuruması için 14.000 rpm'de 3 dk santrifüj edildi. Kolon 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

Membrana değmeden tam merkezine 20-30 µl Buffer AE veya distile su eklendi. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi ve 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Kolonlar atılıp tüplerin kapağı kapatıldı.

Yukarıda tanımlanan yöntem kullanılarak rezeksiyon materyalinde tümörsüz sahadan alınan örnekten ve kontrol grubunu oluşturan olgulardan alınan, histolojik olarak tümör ya da bir başka patoloji içermediği gösterilen %10

formol tespitinde gönderilen mide biopsisi örneklerinden de DNA ekstraksiyonu yapıldı.

1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne; vaka grubunda 200 µl hidrolizbuffer, 10 µl proteinaz K, kontrol grubunda 100 µl hidrolizbuffer ve 5 µl proteinaz K eklendi. Proteinaz K laboratuar şartlarında hazırlandı

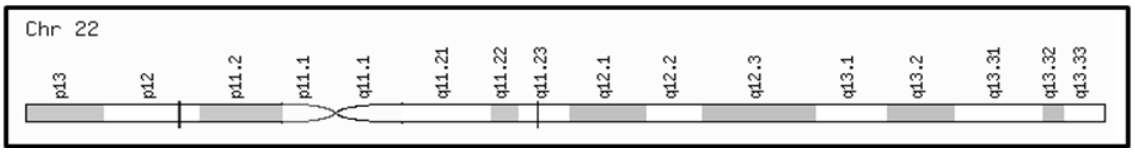
Proteinaz K hazırlanışı:

Malzeme	Konsantrasyon	Miktar	Son Konsantrasyon
Proteinaz K	Liyofilize	25 mg	25 mg/ml
Distile Su		1 ml	
Alikotlanır			

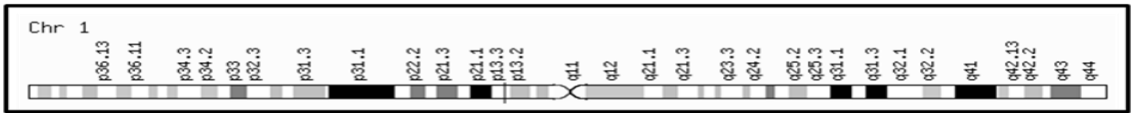
Tüpler vortexlendikten sonra 56°C inkübatörde gece boyu inkübe edildi. Ardından 95°C de 30 dakika bekletildi. 14000 rpm'de 40°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz, 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

3.2. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Bu çalışmada mide adenokanser gelişimi üzerinde etkili olduğu düşünülen GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonları tarandı. PCR tekniği kullanılarak GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonları için seçilen bölgenin amplifikasyonu gerçekleştirildi. Gen delesyonlarının varlığında PCR şartlarının sağlandığını saptamak için β-globin geni internal kontrol olarak kullanılmıştır (110).



Şekil 1. Kromozom 22'de *GSTT1* genin lokasyonu



Şekil 2. Kromozom 1'de *GSTM1* genin lokasyonu

3.2.1. GSTT1 Geni Amplifikasyonu İçin PCR Koşulları (137bç)

GSTT1 gen delesyonu belirlenmesi için yapılan polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) son konsatrasyonları 10pmol/µl olacak şekilde primer kullanıldı. PCR bileşenleri; (NH4)SO2 10X Taq tampon çözeltisi (Solis BioDyne, Estonya), 25mM MgCl2 (Solis BioDyne, Estonya), son konsantrasyon 2mM olacak şekilde dNTP [(dATP, dCTP, dGTP, dTTP)(Solis BioDyne, Estonya)], son konsatrasyonu 10pmol/µl Forward ve Reverse primerler(Solis BioDyne, Estonya), Taq DNA polimeraz (Metabion, Almanya) belirli oranlarda kullanılarak PCR şartları sağlanmış son hacim 50µl' e ddH2O ile tamamlanmıştır (110).

GSTT1 geninin delesyonunu göstermek amacıyla yapılan PCR tekniği için amplifikasyonda kullanılan primer çiftleri;

Forward: 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCT-3'

Reverse: 5'-GTGTGGCAGCATAAGCAGGACT-3'

AGTATCTCCCCAGACACTGGCAGCCACCCTGGCAGAGTTGGATGTGACCC
TGCAGTTGCTCGAGGACAAGTTCCTCCAGAACAAGGCCTTCCTTACTGGT
CCTCACATCTCCTTAGCTGACCTCGTAGCCATCACGGAGCTGATGCATGTG
AGTGCTGTGGGCAGGTGAACCCACTAGGCAGGGGGCCCTGGCTAGTTG
CTGAAGTCCTGCTTATGCTGCCACACCGGGCTATGGCACTGTGCTTAAGT
GTGTGTGCAAACACCTCCTGGAGATCTGTGGTCCCCAAATCAGATGCTGC

GSTT1 gen delesyonunu varlığını tespit için amplifiye edilen bölge (137bç)

Polimeraz zincir reaksionu sıcaklık şartları; 95 °C' de 5 dakika, bunu takip eden 35 siklusta; 94 °C' de 1 dakika, 58 °C' de 1 dakika, 72 °C' de 1 dakika, 72 °C' de 7 dakika olarak PCR cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. *GSTM1* Geni Amplifikasyonu İçin PCR Koşulları (165bç)

GSTM1 gen delesyonu belirlenmesi için yapılan polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) son konsatrasyonları 10pmol/µl olacak şekilde primer kullanıldı. PCR bileşenleri; (NH4)SO2 10X Taq tampon çözeltisi (Solis BioDyne, Estonya), 25mM MgCl2 (Solis BioDyne, Estonya), son konsantrasyon 2mM olacak şekilde dNTP [(dATP, dCTP, dGTP, dTTP)(Solis BioDyne, Estonya)], son konsatrasyonu 10pmol/µl Forward ve Reverse primerler(Solis BioDyne, Estonya), Taq DNA polimeraz (Metabion, Almanya) belirli oranlarda kullanılarak PCR şartları sağlanmış son hacim 50µl' e ddH2O ile tamamlanmıştır.

GSTM1 geninin delesyonunu göstermek amacıyla yapılan PCR tekniği için amplifikasyonda kullanılan primer çiftleri;

Forward: 5′-GAA GGT GGC CTC CTC CTT GG-3′
Reverse: 5'-AAT TCT GGA TTG TAG CAG AT-3'

GTGTGGGTGGCTGCAATGTGTGGGGGGAAGGTGCCTCCTCCTTGGCTGG
GCTGTGATGCTGAGATTGAGTCTGTGTTTTGTGGGTGGCAGGTGGGAGA
CAGAAGAGGAGAAGATTCGTGTGGACATTTTGGAGAACCAGACCATGGA
CAACCATATGCAGCTGGGCATGATCTGCTACAATCCAGAATTTGTGAGTGT
CCCCAGTGAGCTGCATCTGACAGAGTTTGGATTTGGGGCCAGGACTCTT

GSTM1 gen delesyonunu varlığını tespit için amplifiye edilen bölge (165bç)

Polimeraz zincir reaksionu sıcaklık şartları; 95 ^{o}C' de 5 dakika, bunu takip eden 35 siklusta; 94 ^{o}C' de 1 dakika, 57 ^{o}C' de 1 dakika, 72 ^{o}C' de 1 dakika, 72 ^{o}C' de 7 dakika olarak PCR cihazında gerçekleştirilmiştir (Thermal Cycle, Corbett, UK) (110).

3.2.3. Beta-Globin (150bp)

GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonlarının mevcudiyetinde PCR şartlarının doğruluğunun kontrolü için amplifiye edilen bölge (internal kontrol) aşağıda gösterilmiştir.

AACTCCTAAGCCAGTGCCAGAAGAGCCAAGGACAGGTACGGCTGTCATC
ACTTAGACCTCACCCTGTGGAGCCACACCCTAGGGTTGGCCAATCTACTC
CCAGGAGCAGGGAGGGCAGGAGCCAGGGCTGGGCATAAAAGTCAGGG
CAGAGCCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTGACACAACTGTGTTCACTAGA
ACCTCAAACAGACACCATGGTGCATCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCC

Amplifikasyonda kullanılan primer çiftleri;

Forward: 5'-TACGGCTGTCATCACTTAGA-3'

Reverse: 5'-CAGTTGTGTCAGAAGCAAAT-3'

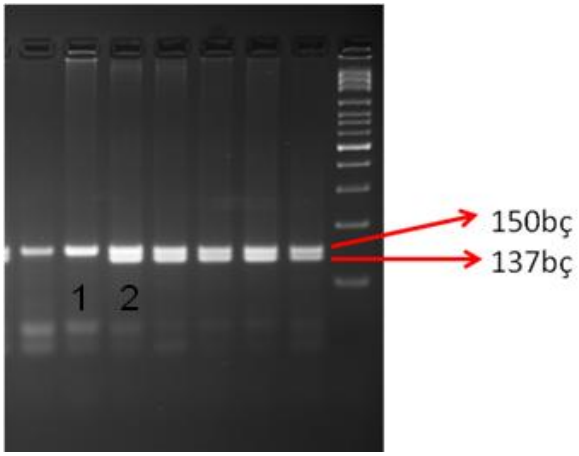
3.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz (Bio Basic İnc, USA); kullanılacağı amaca uygun olarak belirli yüzdelerde hazırlanır. Biz bu çalışmamızda *GSTT1 ve GSTM1* bölgesi için PCR ürünlerini %3' lük agaroz jelde değerlendirdik. %3' lük agaroz jel için 3g, TBE 1X (Tris-HCl, Borik asit, EDTA) solüsyonu ile 100ml' ye tamamlandı.

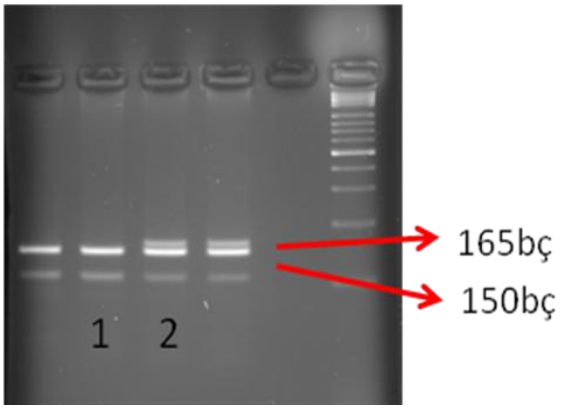
TBE 1X solüsyonu; TBE 5X solüsyonunun 1/5 oranında ddH_2O ile seyreltilmesiyle hazırlanır. TBE 5X solüsyonunun hazırlanışı; 54 g Tris (Bio Basic İnc, USA), 27,5g Borik asit (BioShop, Kanada), 20ml 0.5M pH:8 EDTA (Thermo Scientific, Amerika) ve deiyonize su (ddH_2O) ile 1000mL' ye tamamlanarak hazırlanır. Agaroz istenilen yüzdelerde hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında kaynatılır. Üzerine Etidyum Bromid' in (Sigma, ABD) %5' lik stok solüsyonundan 2µl ilave edildikten sonra iyice karıştırılır ve jel tabağına (Qwl Scientific, ABD) dökülür (110).

Jel dökülmeden önce kullanılacak uygun kuyucuklar belirlenir. Agarozun donması için yaklaşık 40 dk beklenir. Agaroz donduktan sonra jel tabağıyla birlikte jel elektroforez tankına (Biometra, Almanya) yerleştirilir. Elektroforez tankı TBE 1X solüsyonu ile jelin üstünü kapatacak şekilde doldurulur. PCR ürünlerinden 10µl

alınarak temiz bir parafilm (Parafilm, Chicago, ABD) üzerinde 3-5µl Brom-Fenol Mavisi (BBF, Merck, Almanya) ile karıştırılır ve jellere yüklenir. PCR ürünlerinin değerlendirilebilmesi ve reaksiyonun istenilen uzunluktaki doğru bölgeyi çoğalttığını görebilmek için marker (Solis BioDyne, Estonya) PCR ürünleriyle birlikte jele 1-3µl kadar yüklenir. 90-100 V akımda 40-60 dk kadar yürütülür. Ultraviyole ışıkta incelenir. Image Analyser'da fotoğraflanır.



Resim 2. GSTT1(137bç)/β-Globin(150bç) %3' lük Agaroz jelde yürütülmüş PCR ürünlerinin elektroforez fotoğraf görüntüsüdür. Tek bandın görüldüğü 1 numaralı PCR ürününde GSTT1 gen delesyonu mevcuttur. Son örnek marker (SolisBioDyne- 100bp DNA Ladder).



Resim 3. GSTM1(165bç)/β-Globin(150bç) %3'lük Agaroz jelde yürütülmüş PCR ürünlerinin elektroforez fotoğraf görüntüsüdür. Tek bandın görüldüğü 1 numaralı PCR ürününde GSTM1 gen delesyonu mevcuttur. Son örnek marker (SolisBioDyne- 100bp DNA Ladder).

4. BULGULAR

Verilerin analizinde SPSS 11,5 paket programı kullanılmıştır. Sayımla belirtilen değişkenler açısından bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında ki-kare testi, ölçümle belirtilen değişkenler açısından bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Student t testi kullanılmıştır. Tümörlü ve sağlıklı dokularda GSTT1 ve GSTM1 dağılımları açısından farklılık karşılaştırılmasında Mc Nemar testi kullanılmıştır. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Vaka ve kontrol grubunda genel dağılım

	Vaka sayısı	Kontrol grubu sayısı
GST		
TGSTT1-	13	
TGSTT1+	48	
TGSTM1-	30	
TGSTM1+	31	
NGSTT1-	12	12
NGSTT1+	49	49
NGSTM1-	29	29
NGSTM1+	32	32
Yaş Ortalama±standart sapma	60.46±standart sapma	41.79±standart sapma
Cinsiyet		
Erkek	42 (%68,9)	25 (%41)
Kadın	19 (%31,1)	36 (%59)
Sigara		
İçiyor	26 (%42,6)	16 (%26,2)
İçmiyor	26 (%42,6)	33 (%54,1)
İçmiş bırakmış	9 (%14,8)	12 (%19,7)

Alkol		
Yok	33 (%54,1)	35 (%57,4)
Nadiren	22 (%36,1)	25 (%41)
Haftada bir	5 (%8,2)	0 (%0)
Sık	1 (%1,6)	1 (%1,6)
Tütsülenmiş gıda		
Yok	3 (%4,9)	4 (%6,6)
Nadiren	39 (%63,9)	46 (%75,4)
Sık	19 (%31,1)	11 (%18)
Tuzlu yemek		
Yok	13 (%21,3)	6 (%9,8)
Nadiren	34 (%55,7)	37 (%60,7)
Sık	14 (%23)	18 (%29,5)
Kahve		
Yok	26 (%42,6)	21 (%34,4)
Nadiren	13 (%21,3)	31 (%50,8)
Sık	22 (%36,1)	9 (%14,8)
Kola		
Yok	35 (%57,4)	24 (%39,3)
Nadiren	18 (%29,5)	27 (%44,3)
Sık	8 (%13,1)	10 (%16,4)
Siyah çay		
Yok	4 (%6,6)	1 (%1,6)
Nadiren	1 (%1,6)	2 (%3,3)
Sık	56 (%91,8)	58 (%95,1)

4.1. İSTATİSTİKSEL SONUÇLAR

1-Vaka grubunda histopatolojisi tümör olan dokuların, histopatolojisi normal olan dokulara göre GSTT1 durumunun değerlendirilmesinde tümör ile normal dokular arasında anlamlı bir fark saptanmadı p=1,00 (>0,05).

Vaka grubu	Tümöral doku	Normal doku
GSTT1+(delesyonyok)	48 (%78,7)	49 (%80,3)
GSTT1-(delesyon var)	13 (%21,3)	12 (%19,7)
Total	61 (%100)	61 (%100)

2- Vaka grubunda histopatolojisi tümör olan dokuların, histopatolojisi nomal olan dokulara göre GSTM1 durumunun değerlendirilmesinde tümör ile normal dokular arasında anlamlı bir fark saptanmadı0 p=1,00 (>0,05).

Vaka grubu	Tümöral doku	Normal doku
GSTM1+(delesyon yok)	31 (%50,8)	32 (%52,5)
GSTM1-(delesyon var)	30 (%49,2)	29 (%47,5)
Total	61 (%100)	61 (%100)

3- Vaka grubunda histopatolojisi tümör olan dokuların, kontrol grubuna göre GSTT1 durumunun değerlendirilmesinde tümör ile kontrol grubu dokuları arasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0,823 (>0,05).

GSTT1	Vaka tümöral doku	Kontrol grubu
GSTT1+ (delesyon yok)	48 (%78,7)	49 (%80,3)
GSTT1- (delesyon var)	13 (%21,3)	12 (%19,7)
Total	61 (%100)	61 (%100)

4-Vaka grubunda histopatolojisi normal olan dokuların, kontrol grubuna göre GSTT1 durumunun değerlendirilmesinde tümör ile kontrol grubu dokuları arasında anlamlı bir fark saptanmadı p=1 (>0,05).

GSTT1	Vaka normal doku	Kontrol grubu
GSTT1+ (delesyon yok)	49 (%80,3)	49 (%80,3)
GSTT1- (delesyon var)	12 (%19,7)	12 (%19,7)
Total	61 (%100)	61 (%100)

5- Vaka grubunda histopatolojisi tümör olan dokuların, kontrol grubuna göre GSTM1 durumunun değerlendirilmesinde tümör ile kontrol grubu dokuları arasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0,856 (>0,05).

GSTM1	Vaka tümöral doku	Kontrol grubu
GSTM1+ (delesyon yok)	31 (%50,8)	32 (%52,5)
GSTM1- (delesyon var)	30 (%49,2)	29 (%47,5)
Total	61 (%100)	61 (%100)

6- Vaka grubunda histopatolojisi normal olan dokuların, kontrol grubuna göre GSTM1 durumunun değerlendirilmesinde tümör ile kontrol grubu dokuları arasında anlamlı bir fark saptanmadı p=1 (>0,05).

GSTM1	Vaka normal doku	Kontrol grubu
GSTM1+ (delesyon yok)	32 (%52,5)	32 (%52,5)
GSTM1- (delesyon var)	29 (%47,5)	29 (%47,5)
Total	61 (%100)	61 (%100)

7- Vaka ve kontrol grubunun cinsiyet durumuna göre karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptandı p=0,002 (<0.01). Vaka grubunda hastaların %68,9'unun erkek, kontrol grubu hastalarının %59'unun kadın (P=0,03<0,05) olduğu saptandı.

Cinsiyet	Vaka	Kontrol
Erkek	42 (%68,9)	25 (%41)
Kadın	19 (%31,1)	36 (%59)
Total	61 (%100)	61 (%100)

8- Vaka ve kontrol grubunda GSTT1 ve GSTM1 delesyonu durumunu erkek ve kadınlar için ayrı ayrı değerlendirdiğimizde;

a) Vaka grubundaki erkek hastaların tümörlü dokularındaki GSTT1 durumunun kontrol grubu erkek hastalarının GSTT1 durumu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0.718 (>0.05).

GSTT1	Vaka tümöral doku	Kontrol grubu
GSTT1+ (delesyon yok)	32 (%76,2)	20 (%80)
GSTT1- (delesyon var)	10 (%23,8)	5 (%20)
Total	42 (%100)	25 (%100)

b) Vaka grubundaki erkek hastaların tümörlü dokularındaki GSTM1 durumunun kontrol grubu erkek hastalarının GSTM1 durumu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0.729 (>0.05).

GSTM1	Vaka tümöral doku	Kontrol grubu
GSTM1+ (delesyon yok)	20 (%47,6)	13 (%52)
GSTM1- (delesyon var)	22 (%52,4)	12 (%48)
Total	42 (%100)	25 (%100)

c) Vaka grubundaki erkek hastaların normal dokularındaki GSTT1 durumunun kontrol grubu erkek hastalarının GSTT1 durumu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0.718 (>0.05).

GSTT1	Vaka normal doku	Kontrol grubu
GSTT1+ (delesyon yok)	32 (%76,2)	20 (%80)
GSTT1- (delesyon var)	10 (%23,8)	5 (%20)
Total	42 (%100)	25 (%100)

d) Vaka grubundaki erkek hastaların normal dokularındaki GSTM1 durumunun kontrol grubu erkek hastalarının GSTM1 durumu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0.874 (>0.05).

GSTM1	Vaka normal doku	Kontrol grubu
GSTM1+ (delesyon yok)	21 (%50)	13 (%52)
GSTM1- (delesyon var)	21 (%50)	12 (%48)
Total	42 (%100)	25 (%100)

e) Vaka grubundaki kadın hastaların tümörlü dokularındaki GSTT1 durumunun kontrol grubu kadın hastalarının GSTT1 durumu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0.738 (>0.05).

GSTT1	Vaka tümöral doku	Kontrol grubu
GSTT1+ (delesyon yok)	16 (%84,2)	29 (%80,6)
GSTT1- (delesyon var)	3 (%15,8)	7 (%19,4)
Total	19 (%100)	36 (%100)

f) Vaka grubundaki kadın hastaların tümörlü dokularındaki GSTTM1 durumunun kontrol grubu kadın hastalarının GSTM1 durumu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0.717 (>0.05).

GSTM1	Vaka tümöral doku	Kontrol grubu
GSTM1+ (delesyon yok)	11 (%57,9)	19 (%52,8)
GSTM1- (delesyon var)	8 (%42,1)	17 (%47,2)
Total	19 (%100)	36 (%100)

g) Vaka grubundaki kadın hastaların normal dokularındaki GSTT1 durumunun kontrol grubu kadın hastalarının GSTT1 durumu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0.395 (>0.05).

GSTT1	Vaka normal doku	Kontrol grubu
GSTT1+ (delesyon yok)	17 (%89,5)	29 (%80,6)
GSTT1- (delesyon var)	2 (%110,5)	7 (%19,4)
Total	19 (%100)	36 (%100)

ğ) Vaka grubundaki kadın hastaların normal dokularındaki GSTM1 durumunun kontrol grubu kadın hastalarının GSTM1 durumu ile karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı p=0.717 (>0.05).

GSTM1	Vaka normal doku	Kontrol grubu
GSTM1+ (delesyon yok)	11 (%57,9)	19 (%52,8)
GSTM1- (delesyon var)	8 (%42,1)	17 (%47,2)
Total	19 (%100)	36 (%100)

9- Vaka ve kontrol grubunun yaş durumuna göre karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptandı. Vaka grubunda hastaların ortalama yaşının 60,46 kontrol grubu hastalarının ortalama yaşının 41,79 saptandı. p=0,000<0,001

Yaş	Vaka	Kontrol
Ortalama±standart sapma	60.46± standart sapma	41.79± standart sapma

10- Vaka ve kontrol grubunun sigara içme durumuna göre karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı. p=0,162>0,05.

Sigara	Vaka	Kontrol
İçmiyor	26 (%42,6)	33 (%54,1)
İçiyor	26 (%42,6)	16 (%26,2)
İçmiş bırakmış	9 (%14,8)	12 (%19,7)
Total	61 (%100)	61 (%100)

Sigara içme durumu ile gen delesyonu arasındaki ilişki incelendiğinde, GSTT1 ve GSTM1 delesyonu ile sigara içme durumu arasında anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla p=0,975 ve p=0,451).

11- Vaka ve kontrol grubunun, alkol alma durumuna göre karşılaştırılmasında gruplarda yeterli sayıda denek olmadığı için değerlendirme yüzdeler üzerinden yapılmıştır.

Alkol	Vaka	Kontrol
Yok	33 (%54,1)	35 (%57,4)
Nadiren	22 (%36,1)	25 (%41)
Haftada bir	5 (%8,2)	0 (%0)
Sık	1 (%1,6)	1 (%1,6)

12- Vaka ve kontrol grubunun tütsülenmiş gıda alımı durumuna göre karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı. p=0,240>0,05.

Tütsülenmiş gıda	Vaka	Kontrol
Yok	3 (%4,9)	4 (%6,6)
Nadiren	39 (%63,9)	46 (%75,4)
Sık	19 (%31,1)	11 (%18)

13- Vaka ve kontrol grubunun tuzlu gıda alımı durumuna göre karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı. p=0,201>0,05.

Tuzlu yemek	Vaka	Kontrol
Yok	13 (%21,3)	6 (%9,8)
Nadiren	34 (%55,7)	37 (%60,7)
Sık	14 (%23)	18 (%29,5)

14- Vaka ve kontrol grubunun kahve içimi durumuna göre karşılaştırılmasında vaka gurubunda kahve içiminin kontrol gurubuna göre anlamlı ölçüde fazla olduğu saptandı. p=0,001<0,01.

Kahve	Vaka	Kontrol
Yok	26 (%42,6)	21 (%34,4)
Nadiren	13 (%21,3)	31 (%50,8)
Sık	22 (%36,1)	9 (%14,8)

15- Vaka ve kontrol grubunun kola içimi durumuna göre karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptanmadı. p=0,130>0,05.

Kola	Vaka	Kontrol
Yok	35 (%57,4)	24 (%39,3)
Nadiren	18 (%29,5)	27 (%44,3)
Sık	8 (%13,1)	10 (%16,4)

16- Vaka ve kontrol grubunun, siyah çay içimi durumuna göre karşılaştırılmasında gruplarda yeterli sayıda denek olmadığı için değerlendirme yüzdeler üzerinden yapıldı.

Siyah çay	Vaka	Kontrol
Yok	4 (%6,6)	1 (%1,6)
Nadiren	1 (%1,6)	2 (%3,3)
Sık	56 (%91,8)	58 (%95,1)

5. TARTIŞMA

Mide kanseri birçok faktörden kaynaklanan çok evreli bir süreçtir. Çevresel ve kişisel faktörler mide kanserinin etiyolojisine katkıda bulunabilir. Karsinojenlerin metabolizmasında yer alan genlerin polimorfizmleri arasındaki ilişki ve spesifik kimyasal maruziyetlerin mutagenik ve karsinojenik etkilerine kişisel yatkınlık yeni bir araştırma alanı konusudur. Mide kanserinin ailesel birikimi daha önceki çalışmalarda belirlenmiştir. Mide kanserine olan bu ailesel yatkınlık, kalıtsal genetik yatkınlıkları olan aile üyelerinin aynı çevreyi paylaşmasından kaynaklanabilir.

Yakın zamandaki çalışmalar karsinojenlerin ve çevresel toksinlerin metabolizmasında rol alan kod enzimlerin bazı kişilerde artmış mide kanseri riski ile ilişkili olduğunu düşünmektedirler. GST'ler sitotoksik ve genotoksik reaksiyonlarda dâhil olmak üzere glutation (GSH) ile elektrofilik merkezleri olan lipofilik ürünler arasındaki reaksiyonları katalizleyen multifonksiyonel proterinlerdir. Sigara dumanı ve yemekte bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N nitrosaminler potansiyel insan karsinojenleridir. Detoksifiye edici enzimlerin eksiklikleri bu kimyasalların metabolik sonuçlarını etkileyebilir ve maruz kalan kişilerdeki kanser riskini arttırırlar. GSTM1 enzimi polisiklik aromatik hidrokarbonların epoksitleri gibi birçok karsinojenik elektrofillerin detoksifikasyonunda rol almaktadır. Homozigot GSTM1 null genotipleri protein eksprese etmezler ve epoksitler başta olmak üzere zarar verici maddelerin detoksifikasyonunda azalmış yetenekleri vardır (3).

Bu çalışmada GSTT1 gen delesyonu ya da GSTM1 gen delesyonu ile mide kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. GST gen delesyonu ile ilgili şu ana dek yapılan çalışmaların çoğunda genetik analizler periferik kan örneklerinde yapılmıştır. Biz çalışmamızda mide dokusundan analiz yaparak, benzer çalışmalarla olan sonuç farklılıklarının ortaya koymayı amaçladık. Geçmişteki çalışma gruplarının çevresel faktörler açısından net ayrılmadığı ve genetik faktörlerin, çevresel faktörlerle birleştiğinde mide kanseri riskini ne denli etkilediği belirtilmemiş ve bu durum, bu çalışmaların majör eksiklikleri olarak gösterilmiştir. Biz bu

çalışmada genetik polimorfizmin yanı sıra yaşam tarzı, beslenme, sigara içimi gibi faktörleri de analize dahil edilerek kanser gelişim riski açısından polimorfizime olan katkısını değerlendirdik.

Torre ve arkadaşları, GSTM1 gen delesyonu ve mide kanseri arasındaki olası birlikteliği detaylandıran 17 çalışmayı incelemiş ve kanser riskini analiz etmek için randomize etki modeli kullanılarak yayımlanmış 15 olgu kontrol çalışmalarının metaanalizini yapmışlardır. Tüm çalışmalar periferik kan örneklerinden yapılmış ve PCR metodu kullanılmış. Tanımlanan 15 çalışmanın birleştirilmesi sonrasında GSTM1 eksikliği ile mide kanseri riskinin istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Dahası GSTM1 durumu ile sigara içimi ve mide kanseri arasındaki olası ilişkiyi detaylandıran 4 çalışmanın birleştirilmesinde riskin GSTM1 eksikliği olan sigara içenlerde GSTM1 normal sigara içmeyenlere göre 2.93 kat arttığı sonucu elde edilmiş. Bu çalışmalar kişi başına GSTM1 durumunun mide kanseri gelişimi üzerine üzerine etkisi olmadığını ancak mide kanserin tütüne bağlı gelişimini modüle edebildiğini düşündürmüştür. İlerideki çalışmaların dizaynlarına dikkat edilmesi gerektiği, iyi planlanmış populasyon bazlı kontrol çalışmaları ile tüm olası risk faktörleri göz önüne alınarak ve küçük genotipik risklerin tespitine olanak tanıyacak örnek populasyon sayısında daha kesin sonuçlar sunulabileceği sonucu ortaya çıkmıştır (2). Bizim çalışmamızda GSTM1 gen delesyonunun tek başına ya da diğer risk faktörleri ile birlikteliginde mide kanseri üzerine etkisi olmadığı sonucu ortaya çıktı.

Boccia ve arkadaşları, GSTT1 delesyonu ile ilişkili mide kanseri riskinin belirlenmesi için yayımlanan çalışmaların bir metaanalizi yapmışlar. 31 Kasım 2005 den önceki GSTT1 durumu ve mide kanseri ilişkisini araştıran tüm çalışmalar analize dâhil edilmiş. GSTT1 null genotipi ile mide kanseri arasındaki olası ilişkiyi detaylayan 18 olgu kontrol çalışması seçilmiş. Bu çalışmalardaki datayı kombine ederek 2508 olgu ve 4634 kontrol totaline ulaşılmış. Tüm çalışmalarda analizler periferik kan örneklerinden yapılmış ve PCR metodu kullanılmış. Bu çalışmaların analizi sonucunda mide kanseri için istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir risk ortaya çıkmış. Sadece yüksek kalitedeki çalışmalar baz alındığında istatistiksel olarak anlamlı artmış bir risk gözlenmiş. Sadece beyaz ırktaki risk artımı 7

çalışmadan alınan veriler birleştirildiğinde (319 olgu ve 656 kontrol) ki bu GSTT1 ve GSTM1 genotiplerinin birleştirilmesini gerektirimiş, mide kanseri için daha büyük bir istatistiksel anlamlı risk ortaya çıkmış. Her iki gende delesyon mutasyonu olanlarda delesyonu olmayanlara göre risk artmıştır. Sonuç olarak bu metaanalizde GSTT1 null fenotipinin mide kanseri riskini hafif arttırdığı ve uygun olmayan GST fenotipleri ile ilişkili olabileceği kanısına varılmış. İlerideki çalışmaların dizaynına dikkat edilmeli ve multipl genotipler ile çevresel faktörlerde göz önüne alınarak GSTT1 null durumunun mide kanseri riski üzerine etkisi değerlendirilmelidir sonucuna varılmıştır (1). Bizim çalışmamızda GSTT1 gen delesyonunun tek başına ya da diğer risk faktörleri ile birleştitildiğinde mide kanseri gelişimi üzerine bir etkisi olmadığı sonucuna varıldı.

Cai ve arkadaşları GSTM1 ve T1 genetik polimorfizmleri ile mide kanseri arasında herhangi bir ilişki olup olmadığını gösterilmek için, kanser açısından yüksek riskli bir alan olan Çin'in Changle şehri Fujian'da populasyon bazlı bir olgu kontrol çalışması yapmışlar. Veriler standart bir anket ve 95 insidental mide kanseri olgusundan elde edilen kan örneklerinde ve 94 sağlıklı kontrolden elde edilmiş. Genomik DNA'da GSTT1 ve M1 varlık ve yokluğunun belirlenmesi için PCR metodu kullanılmıştır. GSTM1 null fenotip taşıyıcılarında Mide kanseri riskinde artış görülmüş. Yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, alkol içimi ve balık sosu kulanımı için kontol uygulandıktan sonra düzeltilmiş OR (odds ratio): 2.63 olarak hesaplanmış (95% CI: 1.17-5.88). Kanser olgularında GSTT1 null genotipinin sıklığının (%43.16) kontollerden (%50) çok farklı olmadığı görülmüş. Ancak GSTM1 ve GSTT1 null olmayan tiplerde mide kanseri riskinin, hem GSTM1 hem GSTT1 için null olmayan tiplere göre daha yüksek olduğu görülmüş. Hiç sigara içmemiş ve normal GSTM1 genotipi olan kişilerle karşılaştırıldığında hiç sigara içmemiş ama GSTM1 null tiplerde OR'ler 1.60 (95% CI: 0,62-4.19) olarak hesaplanmış. Normal GSTM1 olan sigara içenlerde 2.33 kat, sigara içip GSTM1 null tipi olanlarda mide kanseri gelişimi açısından 8.06 kat artmış risk bulunmuş. Sonuç olarak GSTM1 gen polimorfizmleri mide kanserinin genetik yatkınlığı ile iligli olabilir ve sigaraya bağlı mide kanseri karsinogenezini modüle edilebilir sonucuna varılmıştır (3).

Larsson ve arkadaşlarının 61433 İsveçli kadınla yaptıkları bir kohort çalışmada; 1987–2005 yılları arası ortalama 15.7 yıllık takip yapmışlar. Günlük 1 ve daha az kahve içen kadınlarla karşılaştırıldığında, 2–3 kupa kahve içenlerde hazard ratio 1.46, 4 ve daha fazla içenlerde hazard ratio 1.86 olarak bulunmuş. Günlük 1 bardak arttırımıyla mide kanseri riskinin %22 arttığını bulmuşlar. Doza bağımlı olarak mide kanseri riskini arttırır fakat doğrulama için daha fazla prospektif çalışma gerekli olduğu söylenmiştir. Bizim çalışmamızda da Vaka ve kontrol grubunun kahve içimi durumuna göre karşılaştırılmasında vaka gurubunda kahve içiminin kontrol gurubuna göre anlamlı ölçüde fazla olduğu saptandı ($p=0,001<0,01$)(111).

Chow ve arkadaşlarının 1994 ve 1997 yılları arasında yeni mide kanseri tanısı almış 464 Varşovalı hasta ile yine aynı bölgeden seçilmiş 480 kişilik kontrol grubunu beslenme alışkanlıklarına göre karşılaştırdıkları çalışmada kahve içilmesinin ve beraberinde süt veya krema kullanılmasının mide kanseriyle ilişkisi gösterilememiştir (112).

Agudo ve arkadaşlarının 1987 ile 1989 yılları arasında İspanyanın 4 bölgesinde 354 mide kanserli hastada yaptıkları çalışmada kahve içme alışkanlığı ile bir ilişki bulunamamıştır (113).

Sonuç olarak bizim çalışmamızın bulguları GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonlarını mide adenokanseri gelişimi üzerine etkili olmadığıdır. Benzer çalışmalarda gen delesyonu özellikle sigara içimi ile değerlendirildiğinde anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır. Kahve içimi ile ilgili olası armış risk, içilen kahvenin türü ve kullanım süresi dikkate alınarak daha kapsamlı değerlendirilebilir. Diğer çalışmalarda göze çarpan önemli bir nokta vaka sayılarının oldukça yüksek tutulmasıdır. Bizim çalışmamızda ulaşılan vaka sayısı yeterli olamamış olabilir. Potansiyel gen –çevre ilişkisinin gösterilmesi açısından daha büyük çalışmalar gerekmektedir.

6. ÖZET

Giriş: Mide kanseri tüm dünyada en sık görülen 4. kanserdir. Düşük 5 yıl survi göz önüne alındığında tespiti ve risk faktörlerinin kontrolü en etkin korunma yöntemi olmaktadır. Mide kanserinin gelişiminin hem çevresel, hem de genetik faktörlerin kompleks bir ilişkisinden kaynaklandığı kabul edilmektedir. Değişik genlerin spesifik varyant alellerine bağlı genetik yatkınlık çevresel maruziyetin etkisini modifiye edebilmektedir. Özellikle mide kanserine yatkınlığın bir kısmının prokarsinojenlerin biyoaktivasyonları ve karsinojenlerin detoksifikasyonunda kullanılan düşük penetranslı metabolik genlerdeki kalıtsal polimorfizimlerden kaynaklanması olasıdır. Bunlar arasında en çok çalışılan gen Glutation S transferaz (GSTM1 ve GSTT1) null alelleridir.

Materyal ve metod: Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Kliniğine Mide Adenokanseri tanısı ile ameliyat edilmek üzere yatırılan 61 hasta vaka gurubu olarak ve yine Fakültemiz Genel Cerrahi Kliniği endoskopi ünitesine üst Gastrointestinal sistem endoskopisi yaptırmak için başvuran 61 hasta kontrol gurubu olarak, toplamda 122 hasta alındı. Vaka ve kontrol grubu hastalarına çalışmanın amacı ve içeriğini anlatan aydınlatılmış onam formları imzalatıldı. Çalışmayı kabul eden her hastaya anket formu doldurtuldu.

Vaka ve kontrol grubuna ait parafin doku örnekelerinden sıvı DNA izole edildi. Sıvı formdaki bu DNA'lardan PCR yapılarak GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonu durumuna bakıldı.

Sonuçlar: Vaka grubunda tümöral ve normal dokuların GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonu durumuna göre karşılaştırılmasında, delesyon durumunun kişisel alışkanlıklar ile ilişkisinde anlamlı bir fark ortaya çıkmadı. Vaka grubu tümöral ve normal dokularının GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonu durumu ile kontrol grubu GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonu durumu arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmadı. Kontrol grubu delesyon durumunun kişisel alışkanlıklar ile ilişkisinde anlamlı bir fark ortaya çıkmadı.

Vaka gurubunda kahve içiminin (22 hasta sık içiyor %36,1) kontrol grubuna göre (9 hasta sık içiyor %14,8) anlamlı ölçüde fazla olduğu saptnadı(p=0,001<0,01). Vaka ve kontrol grubunun cinsiyet durumuna göre karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptandı. Vaka grubunda hastaların %68,9'u erkek, kontrol grubunda hastaların %59'u kadın idi. Vaka ve kontrol grubunun yaş durumuna göre karşılaştırılmasında anlamlı bir fark saptandı. Vaka grubunda hastaların ortalama yaşı 60.46, kontrol grubu hastalarının ortalama yaşı 41,79 olaral saptandı. Ancak yaş ve cinsiyet ile ilgili sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Vaka ve kontrol grubunun kahve içimi durumuna göre karşılaştırılmasında vaka gurubunda kahve içiminin kontrol gurubuna göre anlamlı ölçüde fazla olduğu saptandı (p=0,001<0,01)(111).

Tartışma: Bu çalışmada GSTT1 gen delesyonu ya da GSTM1 gen delesyonu ile Mide kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. GST gen delesyonu ile ilgili şu ana dek yapılan çalışmaların çoğunda genetik analizler periferik kan örneklerinde yapılmıştır. Biz çalışmamızda mide dokusundan analiz yaparak, benzer çalışmalarla olan sonuç farklılıklarının ortaya koymayı amaçladık. Geçmişteki çalışma gruplarının çevresel faktörler açısından net ayrılmadığı ve genetik faktörlerin, çevresel faktörlerle birleştiğinde mide kanseri riskini ne denli etkilediği belirtilmemiş ve bu durum, bu çalışmaların majör eksiklikleri olarak gösterilmiştir. Biz bu çalışmada genetik polimorfizmin yanı sıra yaşam tarzı, beslenme, sigara içimi gibi faktörleri de analize dâhil ederek kanser gelişim riski açısından polimorfizime olan katkısını değerlendirdik.

.

7. SUMMARY

Introduction: Gastric cancer is the 4th most frequent cancer in the world. Because of low 5-year survival rates, early diagnosis and avoiding the risk factors are the most important. It is accepted that development of gastric cancer is affected by complex relationship of both environmental and genetic factors. Genetic predisposition according to the variant alleles of different genes may modify the environmental effects. Especially a part of predisposition to gastric cancer is possible to result from hereditary polymorphism in methabolic genes with low penetrance which play act in activation of procarcinogens and detoxification of carcinogens. The most studied genes related with gastric cancer are Gluthation S Transferase(GSTM1 ve GSTT1) null alleles.

Material and Method: In this study, 61 patients who had been diagnosed with gastric adenocancer(case group) and 61 patients who had no complaints but were referred to our endoscopy unit for routine examination(control group) were evaluated. All patients signed informed consent forms. A questionnaire was prepared and all patients completed this questionnaire. Liquid DNA were isolated from paraffin blocks of the control and case groups. GSTT1 and GSTM1 gene deletions were researched in liquid DNA which amplified by PCR method.

Results: When the tumoral and normal tissue samples of the case group were compared according to the GSTT1 and GSTM1 gene deletions, there was not any significant difference found between deletion status and personal habitations. There fore, we also found same results in control group. There was no statistically significant difference according to gene deletions between two groups (p :). The male ratios in case and control groups were 68,9% and 41% respectively. Mean age of the patients in case and control groups were 60.46 and 41.79 respectively. The rate of cofee drinking habbit of the control group was higher than the rate of the case group.

Discussion: In this study there was not any statistically significant correlation found between gastric cancer and GSTT1 /GSTM1 gene deletions. Until today all studies include GST gene deletions in literature were performed with peripheral blood samples. We utilized tumoral and normal tissue samples for this reason and compared our results versus literature results. Most of the studies in literature didn't clearly specify and analyze the effects of the enviromental factors on gastric cancer. So there was major deficiency in literature. We evaluated the effects of not only genetic polymorphism but also lifestyle, nutrition, smoking habitations on gastric cancer.

8. KAYNAKLAR

1. Stefania Boccia, Giuseppe La Torre, Francesco Gianfagna, Âlice Mannocci and Gualtiero Ricciardi. Glutathione S-transferase T1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis of the literature Mutagenesis vol. 21 no. 2 pp. 115–123, 2006

2. Giuseppe La Torre, Stefania Boccia, Gualtiero Ricciardi. Glutathione S-transferase M1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis Cancer Letters 217 (2005) 53–60

3. Lin Cai, Shun-Zhang Yu and Zuo-Feng Zhang. Glutathione S-transferases M1, T1 genotypes and the risk gastric cancer: A case-control study. World J Gastroenterology 2001;7(4):506-509

4. Arıncı K, Elhan A. Anatomi I. Cilt, Güneş Kitabevi, Ankara 2001,ss 241-245

5. Dere F Anatomi Atlası ve Ders kitabı II. Cilt Adana, Nobel Tıp Kitabevi, 1999, ss:881- 894

6. Mihmanlı M. Mide Kanseri ve Cerrahi Tedavisi. Mihmanlı M (ed). Mide Kanseri Tarihçe.İstanbul Avrupa Tıp Kitapçılık, 2004:1-4

7. Billroth T. Offenes schreiben an Herrn Dr. L Wittelshöfer. Wien Med Wochenschr 1881; 31:161-5

8. Wölfler A. Resection of the cancerous pylorus performed by Professor Billroth. Rev Surg.1968, 25: 381-408.

9. Haberkant H. Ueber die bis jetzt erzielten unmittelbaren und weiteren Erfolge der verschiedenen operationen am Magen. Arch Klin Chir 1896; 51:546.

10. Lauren R. 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 1965;64.31-49.

11. Crawfer JM. Gastric carcinoma. İn: Cotran RS, Kumar V. Collins T, eds. Cotran: Robbins pathologic basis of disease. 6. th ed. WB Saunders: Philadelphia, 1999:798-802.

12. Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. N Eng J Med 1995:333:32-41.

13. de Vries AC, van Grieken NC, Looman CW, Casparie MK, de Vries E, Meijer GA, Kuipers EJ. Gastric cancer risk in patients with premalignant gastric lesions: a nationwide cohort study in the Netherlands. Gastroenterology. 2008 Apr;134(4):945-52. Epub 2008 Jan 30.

14. Correa P. Clinical implications of recent development in gastric cancer pathology and epidemiology. Semin Oncol 1985:12:2-10.

15. Ghandur-Mnaymeh L, Paz J, Roldan E, et al. Dysplasia of non- metaplastic gastric mucosa. A proposal for its classification and its possible relationship to diffuse type gastric carcinoma. Am J Pathol 1988:12:96-114.

16. Lauren P, Nevalainen TJ. Epidemiology of intestinal and diffuse types of gastric carcinoma. Cancer 1993,71; 2926-2933.

17. Humar B, Fukuzawa R, Blair V, Dunbier A, More H, Charlton A, Yang HK, Kim WH, Reeve AE, Martin I, Guilford P. Destabilized adhesion in the gastric proliferative zone and c-Src kinase activation mark the development of early diffuse gastric cancer. Cancer Res. 2007 Mar 15;67(6):2480-9.

18. Devesa SS B ot W J. Fraumeni Jr. J F. Changing patterns in the incidence oesophageal and gastric carcinoma in the United States. Cancer 1998:83:2049-2053.

19. Chen JY. LİU WW. Analysis of years follow up Information of malignant tümör in industrial system of Guangzhou. Aİ Zheng 2002 Nov;21(11):1254-8.

20. Bagatur NY: H.Pylori eradikasyonunun MALT üzerine etkisinin değerlendirilmesi İ.Ü.C.T.F İç Hastalıkları AD Gastroenteroloji Bilim Dalı Yan Dal Uzmanlık Tezi 1997 (Basılmamış).

21. Kuipers EJ, Gracia-Casanova M, Pena AS, Pals G, van Kamp G, Kurz-Pohlman E, et al: Helicobacter pylori serology in patients with gastric carcinoma. Scand J Gastroentcrol 2S: 433-37, 1993.

22. Kuipers EJ, Uyterlinde AM, Pera AJ et al Long term sequelae of H.Pylori gastritis. Lancet 345:1525-1528, 1995.

23. Landis SH. Murray T.Bolden S,Wingo PA: Cancer statistics,1999.Cancer J Clin 1999.49:78-80

24. Munoz N, Coirea P, Cuello C, Duque E. Histologic types gastric cancer in high and low risk areas. Int J Cancer 3: 809-818, 1968.

25. Leonarda LGundersonJohn H.Donohue, Patrick A.Burch. Clinical Oncology, 2nd ed. 2000;1(6):367-73

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

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

28. Tredaniel J, Boffetta P. Buiatti E et âli: Tobacco smoking and gastic cance: review and meta-analysis. Int J cancer 1997,72:565-573

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

30. Tarbll NJ, Gelber RD, Weinstein HJ: sex differences in second cancer after Hodgkin's disease in childhood. Lancet 1993, 341: 1428-1430

31. Neubauer AThiede C,Morgner A.et al. Cure of Helicobacter pylori infection and duration of remission of low grade gastric mucosa associated lymphoid tissue lymphoma. J Natl Cancer lnst.1997;89,1350-55

32. Wagner S, Beil W, Westermann J et al. Regulation of gastric epithelial celi growth by helicobacter pylori. Gastroenterology 1997.113: 1836 - 1847

33. Parsonnett, J. Friedman, G.D. Vandessteen, D.P. Chang, Y. Vogelman, J.H. Orentreich, N. and Sibley, R.K. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. N. Engl. J. Med. 325: 1127, 1991.

34. Peek R, Miller GG, Tham KT et al. Heightened inflammatory response and cytokine expression in vivo to CağA +Helicobacter pylori strains. Lab Invest 1995.71:1237-1241

35. Haenszel W, Kurihara M. Segi M t al. Stomach cancer among Japanese in Hawaii. J Natl Cancer lnst.1972:49:969-988

36.Levine PH, Stemmermann GN, Lennette ETet al. Eleveted antibody titers to Epstein-Barr virüs prior to the diagnosis of Epstein-Barr associated gastric adenocarcinoma. Int J Cancer 1995,60:642-644

37. Nakamura S, Deki T, Yao T,et al. Epstein -Barr virüs in gastric carcinoma with lymphoid stroma. Cancer 1994,73:2239-2249.

38. Verdecchia A, Corazziari I, Gatta G, Lisi D, Faivre J, Forman D; EUROCARE Working Group Explaining gastric cancer survival differences among European countries. Int J Cancer. 2004 May 1;109(5):737-41

39. Correa P, Schneider BG. Etiology of gastric cancer: what is new? Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005 Aug;14(8):1865-8.

40. Zagari RM, Bazzoli F. Gastric cancer: who is at risk? Dig Dis. 2004;22(4):302-5.

41. Roberts-Thomson, I.C. Butler, W.J. Polimorphism and gastric cancer. J.Gastroenterol. Hepatol. 2005, 20.793-794

42. Hamilton, J.P. A review of the genomics of gastric cancer. Clin. Gastroenteral. Hepatol. 2006,4: 416-425

43. Boccia, S. Gianfagna, F. La Torre, G. Persiani, R., D'Ugo, D., van Dujin, C.M., Ricciardi, G. Genetic usceptibility to Gastric Cancer: A review of the

Puublished meta-Analyses. İn Cardinni, D.C. (ed), Research Focus on gastric cancer. Hauppauge, NY: Nova Science Publishers 2008, 137-163.

44. Boccia S, Brand A, Brand H, Ricciardi G The integration of genome-based information for common diseases into health policy and healthcare as a major challenge for Public Health Genomics: the example of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in non-cancer diseases. Mutat Res. 2009 Jul 10;667(1-2):27-34. Epub 2008 Oct 21.

45. Boccia S, Hung R, Ricciardi G, Gianfagna F, Ebert MP, Fang JY, Gao CM, Götze T, Graziano F, Lacasaña-Navarro M, Lin D, López-Carrillo L, Qiao YL, Shen H, Stolzenberg-Solomon R, Takezaki T, Weng YR, Zhang FF, van Duijn CM, Boffetta P, Taioli E. Meta- and pooled analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer risk: a huge-GSEC review. Am J Epidemiol. 2008 Mar 1;167(5):505-16. Epub 2007 Dec 27.

46. La Torre G, Boccia S, Ricciardi G Glutathione S-transferase M1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis. Cancer Lett. 2005 Jan 10;217(1):53-60.

47. González CA, Sala N, Capellá G. Genetic susceptibility and gastric cancer risk. Int J Cancer. 2002 Jul 20;100(3):249-60

48. Macarthur M, Hold GL, El-Omar EM. Inflammation and Cancer II. Role of chronic inflammation and cytokine gene polymorphisms in the pathogenesis of gastrointestinal malignancy. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2004 Apr;286(4):G515-20.

49. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer Res. 1992 Dec 15;52(24):6735-40.

50. Troost E, Hold GL, Smith MG, Chow WH, Rabkin CS, McColl KE, El-Omar EM The role of interleukin-1beta and other potential genetic markers as

indicators of gastric cancer risk. Can J Gastroenterol. 2003 Jun;17 Suppl B:8B-12B.

51. Tu S, Bhagat G, Cui G, Takaishi S, Kurt-Jones EA, Rickman B, Betz KS, Penz-Oesterreicher M, Bjorkdahl O, Fox JG, Wang TC. Overexpression of interleukin-1beta induces gastric inflammation and cancer and mobilizes myeloid-derived suppressor cells in mice. Cancer Cell. 2008 Nov 4;14(5):408-19.

52. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, Herrera J, Lissowska J, Yuan CC, Rothman N, Lanyon G, Martin M, Fraumeni JF Jr, Rabkin CS. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. Nature. 2000 Mar 23;404(6776):398-402.

53. Camargo MC, Mera R, Correa P, Peek RM Jr, Fontham ET, Goodman KJ, Piazuelo MB, Sicinschi L, Zabaleta J, Schneider BG. Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006 Sep;15(9):1674-87.

54. Vamvakopoulos JE, Taylor CJ, Morris-Stiff GJ, Green C, Metcalfe S. The interleukin-1 receptor antagonist gene: a single-copy variant of the intron 2 variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism. Eur J Immunogenet. 2002 Aug;29(4):337-40.

55. Pociot F, Mølvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. Eur J Clin Invest. 1992 Jun;22(6):396-402.

56. Santtila S, Savinainen K, Hurme M. Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. Scand J Immunol. 1998 Mar;47(3):195-8.

57. Heinzmann A, Ahlert I, Kurz T, Berner R, Deichmann KA Association study suggests opposite effects of polymorphisms within IL8 on bronchial asthma

and respiratory syncytial virus bronchiolitis. J Allergy Clin Immunol. 2004 Sep;114(3):671-6.

58. Yoshino N, Ishihara S, Rumi MA, Ortega-Cava CF, Yuki T, Kazumori H, Takazawa S, Okamoto H, Kadowaki Y, Kinoshita Y. Interleukin-8 regulates expression of Reg protein in Helicobacter pylori infected gastric mucosa. Am J Gastroenterol. 2005 Oct;100(10):2157-66.

59. Brat DJ, Bellail AC, Van Meir EG The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. Neuro Oncol. 2005 Apr;7(2):122-33.

60. Hull J, Rowlands K, Lockhart E, Sharland M, Moore C, Hanchard N, Kwiatkowski DP. Haplotype mapping of the bronchiolitis susceptibility locus near IL8. Hum Genet. 2004 Feb;114(3):272-9. Epub 2003 Nov 6.

61. Canedo P, Castanheira-Vale AJ, Lunet N, Pereira F, Figueiredo C, Gioia-Patricola L, Canzian F, Moreira H, Suriano G, Barros H, Carneiro F, Seruca R, Machado JC. The interleukin-8-251*T/*A polymorphism is not associated with risk for gastric carcinoma development in a Portuguese population. Eur J Cancer Prev. 2008 Feb;17(1):28-32.

62. Hull J, Thomson A, Kwiatkowski D. Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families. Thorax. 2000 Dec;55(12):1023-7.

63. Savage SA, Hou L, Lissowska J, Chow WH, Zatonski W, Chanock SJ, Yeager M. Interleukin-8 polymorphisms are not associated with gastric cancer risk in a Polish population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006 Mar;15(3):589-91.

64. Kamangar F, Abnet CC, Hutchinson AA, Newschaffer CJ, Helzlsouer K, Shugart YY, Pietinen P, Dawsey SM, Albanes D, Virtamo J, Taylor PR. Polymorphisms in inflammation-related genes and risk of gastric cancer (Finland). Cancer Causes Control. 2006 Feb;17(1):117-25.

65. Savage SA, Abnet CC, Mark SD, Qiao YL, Dong ZW, Dawsey SM, Taylor PR, Chanock SJ. Variants of the IL8 and IL8RB genes and risk for gastric cardia

adenocarcinoma and esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004 Dec;13(12):2251-7.

66. Taguchi A, Ohmiya N, Shirai K, Mabuchi N, Itoh A, Hirooka Y, Niwa Y, Goto H. Interleukin-8 promoter polymorphism increases the risk of atrophic gastritis and gastric cancer in Japan. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005 Nov;14(11 Pt 1):2487-93.

67. Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. J Biochem. 1991 Oct;110(4):559-65.

68. Guengerich FP, Kim DH, Iwasaki M Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. Chem Res Toxicol. 1991 Mar-Apr;4(2):168-79.

69. Mueller RL, Hagel HJ, Wild H, Ruppin H, Domschke W. Nitrate and nitrite in normal gastric juice. Precursors of the endogenous N-nitroso compound synthesis. Oncology. 1986;43(1):50-3.

70. Thörn M, Finnström N, Lundgren S, Rane A, Lööf L Cytochromes P450 and MDR1 mRNA expression along the human gastrointestinal tract. Br J Clin Pharmacol. 2005 Jul;60(1):54-60.

71. Danko IM, Chaschin NA. Association of CYP2E1 gene polymorphism with predisposition to cancer development. Exp Oncol. 2005 Dec;27(4):248-56.

72. Garte S, Gaspari L, Alexandrie AK, Ambrosone C, Autrup H, Autrup JL, Baranova H, Bathum L, Benhamou S, Boffetta P, Bouchardy C, Breskvar K, Brockmoller J, Cascorbi I, Clapper ML, Coutelle C, Daly A, Dell'Omo M, Dolzan V, Dresler CM, Fryer A, Haugen A, Hein DW, Hildesheim A, Hirvonen A, Hsieh LL, Ingelman-Sundberg M, Kalina I, Kang D, Kihara M, Kiyohara C, Kremers P, Lazarus P, Le Marchand L, Lechner MC, van Lieshout EM, London S, Manni JJ, Maugard CM, Morita S, Nazar-Stewart V, Noda K, Oda Y, Parl FF, Pastorelli R, Persson I, Peters WH, Rannug A, Rebbeck T,

Risch A, Roelandt L, Romkes M, Ryberg D, Salagovic J, Schoket B, Seidegard J, Shields PG, Sim E, Sinnet D, Strange RC, Stücker I, Sugimura H, To-Figueras J, Vineis P, Yu MC, Taioli E. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001 Dec;10(12):1239-48.

73. Kato S, Onda M, Matsukura N, Tokunaga A, Tajiri T, Kim DY, Tsuruta H, Matsuda N, Yamashita K, Shields PG. Cytochrome P4502E1 (CYP2E1) genetic polymorphism in a case-control study of gastric cancer and liver disease. Pharmacogenetics. 1995;5 Spec No:S141-4

74. Canedo P, Durães C, Pereira F, Regalo G, Lunet N, Barros H, Carneiro F, Seruca R, Rocha J, Machado JC Tumor necrosis factor alpha extended haplotypes and risk of gastric carcinoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008 Sep;17(9):2416-20.

75. Gao LB, Rao L, Wang YY, Liang WB, Li C, Xue H, Zhou B, Sun H, Li Y, Lv ML, Du XJ, Zhang L The association of interleukin-16 polymorphisms with IL-16 serum levels and risk of colorectal and gastric cancer. Carcinogenesis. 2009 Feb;30(2):295-9. Epub 2008 Dec 10.

76. Canedo P, Corso G, Pereira F, Lunet N, Suriano G, Figueiredo C, Pedrazzani C, Moreira H, Barros H, Carneiro F, Seruca R, Roviello F, Machado JC. The interferon gamma receptor 1 (IFNGR1) -56C/T gene polymorphism is associated with increased risk of early gastric carcinoma. Gut. 2008 Nov;57(11):1504-8. Epub 2008 Jul 1.

77. Shibata T, Arisawa T, Tahara T, Ohkubo M, Yoshioka D, Maruyama N, Fujita H, Kamiya Y, Nakamura M, Nagasaka M, Iwata M, Takahama K, Watanabe M, Hirata I. Selenoprotein S (SEPS1) gene -105G>A promoter polymorphism influences the susceptibility to gastric cancer in the Japanese population. BMC Gastroenterol. 2009 Jan 13;9,2.

78. Egan KM, Cai Q, Shu XO, Jin F, Zhu TL, Dai Q, Gao YT, Zheng W. Genetic polymorphisms in GSTM1, GSTP1, and GSTT1 and the risk for breast cancer:

results from the Shanghai Breast Cancer Study and meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004 Feb;13(2):197-204

79. Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. Crit Rev Biochem Mol Biol. 1995;30(6):445-600.

80. Strange RC, Spiteri MA, Ramachandran S, Fryer AA. Glutathione-S-transferase family of enzymes. Mutat Res. 2001 Oct 1;482(1-2):21-6.

81. Hashibe M, Brennan P, Strange RC, Bhisey R, Cascorbi I, Lazarus P, Oude Ophuis MB, Benhamou S, Foulkes WD, Katoh T, Coutelle C, Romkes M, Gaspari L, Taioli E, Boffetta P. Meta- and pooled analyses of GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes and risk of head and neck cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2003 Dec;12(12):1509-17.

82. Tripathi S, Ghoshal U, Ghoshal UC, Mittal B, Krishnani N, Chourasia D, Agarwal AK, Singh K. Gastric carcinogenesis: Possible role of polymorphisms of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 genes. Scand J Gastroenterol. 2008;43(4):431-9.

83. La Torre G, Boccia S, Ricciardi G. Glutathione S-transferase M1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis. Cancer Lett. 2005 Jan 10;217(1):53-60.

84. Strange RC, Matharoo B, Faulder GC, Jones P, Cotton W, Elder JB, Deakin M. The human glutathione S-transferases: a case-control study of the incidence of the GST1 0 phenotype in patients with adenocarcinoma. Carcinogenesis. 1991 Jan;12(1):25-8.

85. Deakin M, Elder J, Hendrickse C, Peckham D, Baldwin D, Pantin C, Wild N, Leopard P, Bell DA, Jones P, Duncan H, Brannigan K, Alldersea J, Fryer AA, Strange RC. Glutathione S-transferase GSTT1 genotypes and susceptibility to cancer: studies of interactions with GSTM1 in lung, oral, gastric and colorectal cancers. Carcinogenesis. 1996 Apr;17(4):881-4.

86. Saadat M. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase T1 (GSTT1) and susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis. Cancer Sci. 2006 Jun;97(6):505-9.

87. Boccia S, La Torre G, Gianfagna F, Mannocci A, Ricciardi G. Glutathione S-transferase T1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis of the literature. Mutagenesis. 2006 Mar;21(2):115-23. Epub 2006 Mar 3.

88. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet. 1995 May;10(1):111-3.

89. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. Mol Genet Metab. 1998 Jul;64(3):169-72.

90. Friedman G, Goldschmidt N, Friedlander Y, Ben-Yehuda A, Selhub J, Babaey S, Mendel M, Kidron M, Bar-On H. A common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: association with plasma total homocysteine and folate concentrations. J Nutr. 1999 Sep;129(9):1656-61.

91. Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. J Nutr. 2000 Feb;130(2):129-32.

92. Zintzaras E. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms with genetic susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis. J Hum Genet. 2006;51(7):618-24. Epub 2006 Jun 7.

93. Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D, Katsinelos P. New aspects of Helicobacter pylori infection involvement in gastric oncogenesis. J Surg Res. 2008 May 1;146(1):149-58. Epub 2007 Jul 27.

94. Jasienska G, Kapiszewska M, Ellison PT, Kalemba-Drozdz M, Nenko I, Thune I, Ziomkiewicz A. CYP17 genotypes differ in salivary 17-beta estradiol levels:

a study based on hormonal profiles from entire menstrual cycles. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006 Nov;15(11):2131-5.

95. Shepherd T, Tolbert D, Benedetti J, Macdonald J, Stemmermann G, Wiest J, DeVoe G, Miller MA, Wang J, Noffsinger A, Fenoglio-Preiser C. Alterations in exon 4 of the p53 gene in gastric carcinoma. Gastroenterology. 2000 Jun;118(6):1039-44.

96. Hiyama T, Tanaka S, Kitadai Y, Ito M, Sumii M, Yoshihara M, Shimamoto F, Haruma K, Chayama K. p53 Codon 72 polymorphism in gastric cancer susceptibility in patients with Helicobacter pylori-associated chronic gastritis. Int J Cancer. 2002 Jul 20;100(3):304-8.

97. Zhou Y, Li N, Zhuang W, Liu GJ, Wu TX, Yao X, Du L, Wei ML, Wu XT P53 codon 72 polymorphism and gastric cancer: a meta-analysis of the literature. Int J Cancer. 2007 Oct 1;121(7):1481-6.

98. Wei J, O'Brien D, Vilgelm A, Piazuelo MB, Correa P, Washington MK, El-Rifai W, Peek RM, Zaika A. Interaction of Helicobacter pylori with gastric epithelial cells is mediated by the p53 protein family. Gastroenterology. 2008 May;134(5):1412-23. Epub 2008 Jan 31.

99. Graziano F, Humar B, Guilford P. The role of the E-cadherin gene (CDH1) in diffuse gastric cancer susceptibility: from the laboratory to clinical practice. Ann Oncol. 2003 Dec;14(12):1705-13.

100. Wang GY, Lu CQ, Zhang RM, Hu XH, Luo ZW. The E-cadherin gene polymorphism 160C->A and cancer risk: A HuGE review and meta-analysis of 26 case-control studies. Am J Epidemiol. 2008 Jan 1;167(1):7-14. Epub 2007 Oct 29.

101. Pećina-Slaus N. Tumor suppressor gene E-cadherin and its role in normal and malignant cells. Cancer Cell Int. 2003 Oct 14;3(1):17.

102. Li LC, Chui RM, Sasaki M, Nakajima K, Perinchery G, Au HC, Nojima D, Carroll P, Dahiya R. A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter alters transcriptional activities. Cancer Res. 2000 Feb 15;60(4):873-6.

103. Ohta H, Aoyagi K, Fukaya M, Danjoh I, Ohta A, Isohata N, Saeki N, Taniguchi H, Sakamoto H, Shimoda T, Tani T, Yoshida T, Sasaki H. Cross talk between hedgehog and epithelial-mesenchymal transition pathways in gastric pit cells and in diffuse-type gastric cancers. Br J Cancer. 2009 Jan 27;100(2):389-98. Epub 2008 Dec 23.

104. Komuro A, Yashiro M, Iwata C, Morishita Y, Johansson E, Matsumoto Y, Watanabe A, Aburatani H, Miyoshi H, Kiyono K, Shirai YT, Suzuki HI, Hirakawa K, Kano MR, Miyazono K. Diffuse-type gastric carcinoma: progression, angiogenesis, and transforming growth factor beta signaling. J Natl Cancer Inst. 2009 Apr 15;101(8):592-604. Epub 2009 Apr 7.

105. Houghton J, Stoicov C, Nomura S, Rogers AB, Carlson J, Li H, Cai X, Fox JG, Goldenring JR, Wang TC. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. Science. 2004 Nov 26;306(5701):1568-71.

106. McDonald SA, Greaves LC, Gutierrez-Gonzalez L, Rodriguez-Justo M, Deheragoda M, Leedham SJ, Taylor RW, Lee CY, Preston SL, Lovell M, Hunt T, Elia G, Oukrif D, Harrison R, Novelli MR, Mitchell I, Stoker DL, Turnbull DM, Jankowski JA, Wright NA. Mechanisms of field cancerization in the human stomach: the expansion and spread of mutated gastric stem cells. Gastroenterology. 2008 Feb;134(2):500-10. Epub 2007 Nov 28.

107. Cao H, Xu W, Qian H, Zhu W, Yan Y, Zhou H, Zhang X, Xu X, Li J, Chen Z, Xu X. Mesenchymal stem cell-like cells derived from human gastric cancer tissues. Cancer Lett. 2009 Feb 8;274(1):61-71. Epub 2008 Oct 11.

108. Esposito G. Complementary techniques: laser capture microdissection--increasing specificity of gene expression profiling of cancer specimens. Department of Oncological and Surgical Sciences, University of Padova, via Gattamelata 64, Italy. Adv Exp Med Biol 2007; 593: 54-65.

109. Chen BF, Clejan S. Rapid preparation of tissue DNA from paraffin-embedded blocks and analysis by polymerase chain reaction. Department of Pathology, Tulane University School of Medicine, New Orleans, Louisiana. J Histochem Cytochem. 1993 May;41(5):765-8.

110. Strachan T, Read AP. Human Molecular Genetics 2nd edition. New York: Wiley-Liss; 1999. ISBN-10: 1-85996-202-5

111. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A. 1.Coffee consumption and stomach cancer risk in a cohort of Swedish women. Division of Nutritional Epidemiology, The National Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. Int J Cancer. 2006 Nov 1;119(9):2186-9.

112. Chow WH, Swanson CA, Lissowska J, Groves FD, Sobin LH, Nasierowska-Guttmejer A, Radziszewski J, Regula J, Hsing AW, Jagannatha S, Zatonski W, Blot WJ. Risk of stomach cancer in relation to consumption of cigarettes, alcohol, tea and coffee in Warsaw, Poland. Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, Bethesda, MD 20892, USA. Int J Cancer. 1999 Jun 11;81(6):871-6

113. Agudo A, González CA, Marcos G, Sanz M, Saigi E, Verge J, Boleda M, Ortego J. Consumption of alcohol, coffee, and tobacco, and gastric cancer in Spain. Unit of Epidemiology, Hospital de Mataró, Spain. Cancer Causes Control. 1992 Mar;3(2):137-43

9. EKLER

EK-1. HASTA BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU (A)

Sindirim sistemi hastalıkları toplumumuzda çok sık görülmektedir. Bu hastalıklardan başlıcaları (üst sindirim sistemi hastalıkları) gastrit, mide ve oniki parmak barsak ülserleri, reflü, mide fıtığı ve mide tümörleridir. Günümüzde bu hastalıkların çoğunun tedavisi mümkündür. Özellikle mide tümörü varlığında hastalığın erken tanısı, tedavi şansı açısından oldukça önemlidir. Son zamanlarda endoskopik tekniklerin gelişmesi (kamera ile yemek borusu, mide ve on iki parmak barsağının incelenmesi) bu erken tanının konulmasında ve hatta bazen tedavinin yapılmasında etkili olmuştur.

Günümüzde mide hastalıkları ile özellikle mide tümörleri ile ilgili önemli çalışmalar yapılmaktadır. Bunlardan bir kısmı bu tümörlerin genetik (kalıtımsal) sorunlardan kaynaklanabilirliği üzerindedir. Geçmiş yıllarda endoskopik incelemeler yapılarak alınan mide dokularından genetik çalışmalar yapılmıştır. Kansere yol açan genetik bozukluğun ortaya konması ve bu genetik bozukluğun etkisini arttıran çevresel faktörlerin varlığı araştırılmıştır.

Size yapılacak bu endoskopik incelemede yemek borusu, mide ve oniki parmak barsağının bir bölümü incelenecektir. Bu inceleme esnasında mide dokusunda, doktorunuz (endoskopist) şüpheli gördüğü bölgelerden doku tanısı ve genetik inceleme amaçlı parçalar (3-4 adet 5 x 5 mm boyutunda) alacaktır. Bu parçalardan bir kısmı hastanemiz patoloji bölümüne gönderilecek ve burada doku tanısı (gastrit, tümör vs) açısından incelenecektir. Alınan diğer parçalar ise genetik yapının ortaya konulması amacı ile (GSTT1 ve GST M1 null fenotip) hastanemiz PCR (gen çoğaltıcı işlem) laboratuarında incelenecektir. Doku tanısı normal olan kişiler kontrol (kanserli olguların genetik yapı açısından karşılaştırılacağı kişiler) grubu olacaktır.

Bu çalışmada amacımız, kanser tanısı ile ameliyat ettiğimiz hastaların dokularını genetik açıdan siz normal insanların dokuları ile karşılaştırıp farkı ortaya koymaktır. Kişilerin kansere yakalanmadan önceki dönemlerde yapılan endoskopik incelemelerinden alınan doku örneklerinden yapılan genetik tarama ile mide kanserine yakalanma riskini ortaya koymak amaçlanmaktadır. Böylece yüksek risk olarak değerlendirilecek kişiler daha yakından takip edilecek ve kanser yayılmadan, çok erken dönemde saptanabilecek ve hastanın tedavi şansı artacaktır.

Bu çalışma tamamen bilimsel amaçlı olup hastanın izninin ve onayının alınması şarttır. Hastaların doku tanıları ve genetik inceleme sonuçları yanı sıra anamnez ve anket formu bilgileri tamamen gizli tutulacak ve bu çalışmanın dışındaki üçüncü kişiler ile paylaşılmayacaktır. Kişi istediği zaman aşağıda adı ve iletişim adresi yazılı olan sorumlu doktoru ile görüşebilecek ve sorularını sorabilecektir. Kişi dilediği zaman bu çalışmadan çekilme hakkına sahiptir. Kişinin bu çalışmayı reddetmesi, hastalığının tanısı ve tedavisini hiçbir şekilde etkilemeyecektir.

Sayın hastamız lütfen bu formu dikkatlice okuyunuz ve çalışmaya onay veriyorsanız, lütfen aşağıdaki boşlukları doldurup imzalayınız.

Tarih:

Bilgilendirmeyi yapan: Dr. Ömer Faruk Bük,

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

Tel: 508 26 46, 508 32 09, 595 63 10

İmzası:

Hastanın

Adı-Soyadı:

İmzası:

Yakınının

Adı-Soyadı

İmzası

EK-2. HASTA BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU (B)

Sindirim sistemi hastalıkları toplumumuzda çok sık görülmektedir. Bu hastalıklardan başlıcaları (üst sindirim sistemi hastalıkları) gastrit, mide ve oniki parmak barsak ülserleri, reflü, mide fıtığı ve mide tümörleridir. Günümüzde bu hastalıkların çoğunun tedavisi mümkündür. Özellikle mide tümörü varlığında hastalığın erken tanısı, tedavi şansı açısından oldukça önemlidir.

Günümüzde mide hastalıkları ile özelliklede mide tümörleri ile ilgili önemli çalışmalar yapılmaktadır. Bunlardan bir kısmı bu tümörlerin genetik (kalıtımsal) sorunlardan kaynaklanabilirliği üzerindedir. Geçmiş yıllarda mide kanserli hastalarda birçok genetik çalışma yapılmış, kansere yol açan genetik bozukluğun ortaya konması ve bu genetik bozukluğun etkisini arttıran çevresel faktörlerin varlığı araştırılmıştır.

Ameliyatınız sırasında, midenizin bir bölümü ya da tamamı çıkarılacaktır. Çıkarılan parçalar doku tanısı konulması amacı ile fakültemiz patoloji bölümüne gönderilecektir. Daha sonra çıkarılan midede tümörün kendisinden ve normal görünen bölgelerden alınan doku örnekleri (3-4 adet 5x5mm boyutunda) genetik yapının ortaya konulması amacı ile (GSTT1 ve GSTM1 null fenotip) Fakültemiz Cerrahi Onkoloji Genetek ve Moleküler Biyoloji Laboratuarına gönderilecek ve burada PCR (gen çoğaltıcı işlem) ile değerlendirilecektir. Doku tanısı gerçekten tümör olan hastalar çalışmamızda olgu-vaka olarak kabul edileceklerdir.

Kanser tanısı alan hastaların genetik inceleme sonucu kontrol grubu hastaların genetik yapısı ile karşılaştırılacaktır ve aradaki fark ortaya konulacaktır. Burada kişilerin kansere yakalanmadan önceki dönemlerindeki endoskopik incelemelerinde alınan doku örneklerinden yapılan genetik tarama ile mide kanserine yakalanma riskini ortaya koymak amaçlanmaktadır. Böylece yüksek risk olarak değerlendirilecek kişiler daha yakından takip edilecek ve kanser yayılmadan, çok erken dönemde saptanabilecek ve hastaların tedavi şansı artacaktır.

Ayrıca kanserde etkili olduğu kanıtlanmış çevresel faktörleri sorgulayan bir anemnez ve anket formu doktorunuz tarafından size doldurtulacaktır. Bu formun

doldurulmasının amacı yaşam şekli, beslenme, aile hikâyesi, sigara kullanımı gibi faktörlerin kanser gelişimi üzerine etkisini belirlemektir.

Bu çalışma tamamen bilimsel amaçlı olup hastanın izninin ve onayının alınması şarttır. Hastaların doku tanıları ve genetik inceleme sonuçları yanı sıra anamnez ve anket formu bilgileri tamamen gizli tutulacak ve bu çalışmanın dışındaki üçüncü kişiler ile paylaşılmayacaktır. Kişi istediği zaman aşağıda adı ve iletişim adresi yazılı olan sorumlu doktoru ile görüşebilecek ve sorularını sorabilecektir. Kişi dilediği zaman bu çalışmadan çekilme hakkına sahiptir. Kişinin bu çalışmayı reddetmesi, hastalığının tanısı ve tedavisini hiçbir şekilde etkilemeyecektir.

Sayın hastamız lütfen bu formu dikkatlice okuyunuz ve çalışmaya onay veriyorsanız, lütfen aşağıdaki boşlukları doldurup imzalayınız.

Tarih:

Bilgilendirmeyi yapan: Dr. Ömer Faruk Bük

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

Tel: 508 26 46, 508 32 09, 595 63 10

İmzası:

Hastanın

Adı-Soyadı:

İmzası:

Yakınının

Adı-Soyadı

İmzası

EK- 3. ANAMNEZ ve ONAM FORMU

Hastane Protokol No

T.C Kimlik No

Adı

Soyadı

Cinsiyeti

Uyruğu

Doğum yeri

Doğum Tarihi

Baba Adı

Anne Adı

Kan Grubu

Kurumu

Adres

Posta Kodu

Ev Telefonu

Cep Telefonu

İş Telefonu

Kişisel Bilgiler

1-Mesleğiniz?

2- Sizde tanı konulan bir organ kanseri varmı?

- Mide
- Kalın Bağırsak
- Rektum
- İnce Bağırsak
- Safrakesesi
- Pankreas
- Karaciğer
- Yemek borusu
- Akciğer
- Meme
- Beyin
- Kemik
- Kas Dokusu
- Yağ Dokusu
- Lenfatik Sistem
- Kan
- Cilt
- Rahim
- Yumurtalık
- Serviks
- Prostat
- Mesane
- Böbrek
- Diğer

Mide Hastalıkları

1- Daha önce endoskopi yaptırdınız mı?

- Evet
- Hayır

2- Daha önce konmuş bir tanı var mı?

	Evet	Hayır	Bilmiyorum
Hiç ülser tanısı aldınız mı?	○	○	○
Hiç gastrit tanısı aldınız mı?	○	○	○
Hiç mide kanaması geçirdiniz mi?	○	○	○
Hiç reflu tanısı aldınız mı?	○	○	○
Helicobacter pylori tedavisi gördünüz mü?	○	○	○

Alışkanlıklar

1- Sigara içiyor musunuz?
- Hayır, hiç içmedim
- Evet içiyorum
- İçiyordum bıraktım

2- İçiyorsanız ya da bıraktıysanız: …adet… Yılından… Yılına kadar

3- Alkol alıyor musunuz?
- Hayır
- Nadiren, özel günlerde
- Haftada bir
- Her gün

4- lkol alıyorsanız hangi tür içkileri içiyorsunuz?
- Bira
- Şarap
- Rakı
- Votka
- Cin
- Viski
- Diğer

5- Her bir seferde kaç bardak/ kadeh içersiniz? …bardak/kadeh

7- Kahve içme sıklığınız nedir?

- İçmem
- Günde
- Haftada
- Ayda

Adet…

8- Çay içme sıklığınız nedir?

- İçmem
- Günde
- Haftada
- Ayda

Adet…

9- Kola içme sıklığınız nedir?

- İçmem
- Günde
- Haftada
- Ayda

Adet…

10- Maden sodası içme sıklığınız nedir?

- İçmem
- Günde
- Haftada
- Ayda

Adet…

11- Hazır meyve suyu içme sıklığınız nedir?

- İçmem
- Günde
- Haftada
- Ayda

Adet…

12- Hızlı yemek yeme alışkanlığınız var mı?

- Evet
- Hayır

13- Çok sıcak yeme-içme alışkanlığınız var mı? Varsa ne sıklıkta?

- Hiç yemem
- Nadiren yerim
- Bazen
- Sık sık
- Her zaman

14- Çok soğuk yeme-içme alışkanlığınız var mı? Varsa ne sıklıkta?

- Hiç yemem
- Nadiren yerim
- Bazen
- Sık sık
- Her zaman

15- Izgarada pişmiş yiyecekleri ne sıklıkta yersiniz?

- Hiç yemem
- Nadiren yerim
- Bazen
- Sık sık
- Her zaman

16- Yemeklerinizi tuzlu tüketme alışkanlığınız / tuzlu gıdalara düşkünlüğünüz var mıdır?

Hiç yemem

- Nadiren yerim
- Bazen
- Sık sık
- Her zaman