

T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

MİDE ADENOKANSERİ İLE ATROFİK GASTİRİT ARASINDAKİ
MOLEKÜLER PATOLOJİ

İÇ HASTALIKLARI TIPTA UZMANLIK BİTİRME TEZİ
DR. FAHRİ BİLGİÇ

Tez Danışmanı
PROF. DR. HAKAN YÜCEYAR

Manisa, 2016

ÖNSÖZ

Hekimlik mesleğinin öğrenilmesinin en önemli kademesi olan ve meslek hayatımın bundan sonraki kısmını yönlendirecek uzmanlık eğitimimin sonuna gelmiş bulunuyorum. Mesleki eğitimimin burada sonlanmayıp, aslında yeni başladığının farkında olarak;

Çalışmalarım sırasında öneri ve yardımlarıyla tezimin şekillenmesini ve oluşmasını sağlayan, engin bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım tez danışmanım değerli hocam Prof.Dr. Hakan Yüceyar'a

Tez sürecinde her zaman destek olan yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Doç.Dr. Elmas Kasap'a , Yrd.Doç.Dr. Seda Örenay Boyacıoğlu'na, Uzm. Dr. Emre Gerçeker'e, Dr. Ufuk Demirci 'ye,

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle eğitimimde çok büyük emekleri olan, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, kendilerini daima örnek alacağım tüm değerli hocalarıma,

Asistanlığım süresince eğitimime destek veren, her zaman sabır ve hoşgörülerini hissettiğim tüm yan dal asistanı abilerim ve ablalarım,

Bu süreçteki iyi kötü her anımı paylaştığım, keyifle çalışmama vesile olan tüm asistan arkadaşlarıma,

Klinik hemşire ve personellerimize,

Tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve varlıkları ile bana güç veren canım aileme

İyi günde kötü günde her zaman yanımda olan en büyük destekçim çok değerli kardeşim Hüseyin Bilgiç 'e

Yürekten teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Dr. Fahri BİLGİÇ

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	III
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ	VII
GRAFİK LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR LİSTESİ	IX
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Mide Kanseri.....	3
2.1.1 Midenin Anatomisi	3
2.1.2 Mide Kanserinin Epidemiyolojisi	4
2.1.3 Mide Kanseri Risk Faktörleri.....	5
2.1.3.1 Çevresel Faktörler:.....	5
2.1.3.2 Konakçıya Ait Faktörler:	7
2.1.4 Mide Kanserinde Patoloji ve Moleküler Patogenez	8
2.1.5 Erken Evre Mide Kanseri.....	10
2.1.6 Mide Kanseri Semptomları	12
2.1.7 Mide Kanserinin Tanısı.....	12
2.1.8 Mide Adenokarsinomlarında Sınıflaması	14
2.2 Kanser Genetiği	17
2.3 Mide Kanseri ve Genetik.....	18
2.4 Kronik Gastrit.....	23
2.5 Atrofik Gastrit.....	23
2.6 İntestinal Metaplazi	24
2.7 Displazi	25
2.8 Epigenetik.....	26
2.8.1 Dna Metilasyonu.....	29
2.8.2 Kromatin Yeniden Modellenmesi	30
2.8.2.1 Histon Modifikasyonları	30
2.8.2.2 Atp Bağımlı Kromatin Yeniden Modellenmesi	31
III. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1 Çalışma Dizaynı ve Hastalar.....	35

3.1.1 Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:.....	35
3.1.2 Araştırmadan Dışlama Kriterleri:.....	36
3.2 Endoskopi ve Doku Örneklemesi İşlemi	36
3.3 Moleküler Yöntem.....	37
3.3.1 Hazırlanan Solüsyonlar	39
3.3.2 Dokulardan RNA İzolasyonu	39
3.3.3 cDNA Sentezi	41
3.3.4 qRT-PCR Array Yüklemeşi	41
3.3.5 Real-Time PCR	42
3.4 Veri Analizi ve İstatistik	43
IV. BULGULAR	44
4.1 Hasta Grupları	44
4.1.1 Mide Kanseri Hastaları ve Alt Grupları.....	45
4.1.2 Atrofik Gastritli Hastaları ve Alt Grupları	46
4.2 Kromatin Yeniden Modellenme Gen Ekspresyon Analizi	47
4.2.1 Mide Kanseri Alt Grup Gen Ekspresyon Analizi	53
4.2.1.1 Metastaz Durumuna Göre Gen Ekspresyon Analizi	53
4.2.1.2 Tutulum Lokalizasyonuna Göre Gen Ekspresyon Analizi	56
4.2.1.3 Sürviye Göre Gen Ekspresyon Analizi	59
4.2.2 Atrofik Gastrit Hastaları Alt Grup Gen Ekspresyon Analizi	62
V. TARTIŞMA	65
VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	83
VII. ÖZET	85
VIII. SUMMARY	86
IX. KAYNAKLAR.....	87

TABLO LİSTESİ

Tablo 1	Mide Kanseri Sınıflandırması	9
Tablo 2	Mide Kanseri TNM Evreleme Sistemi (2002)	15
Tablo 3	Mide Kanserin Evreleme Sistemi (2002)	16
Tablo 4	Displazi WHO sınıflaması	25
Tablo 5	Araştırılacak Kromatin Yeniden Modellenme Genleri	38
Tablo 6	Hasta Grupları ve Genel Parametreler	44
Tablo 7	Mide Kanseri Gen Ekspresyon Analizi	48
Tablo 8	Atrofik Gastrit Gen Ekspresyon Analizi	49
Tablo 9	Mide Kanseri Hastalarının Atrofik Gastrit Hastalarına Göre Gen Ekspresyonlarının Karşılaştırılması	52
Tablo 10	Metastazı Olan Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi	53
Tablo 11	Metastazı Olmayan Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi	54
Tablo 12	Metastazı Olan Alt Grubun ve Olmayan Alt Gruba Göre Gen Ekspresyonlarının Karşılaştırması	55
Tablo 13	Mide Diffüz Tutulum Olan Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi	56
Tablo 14	Mide Diffüz Tutulum Olmayan(Proximal Veya Distal Yerleşimli)Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi	57
Tablo 15	Midenin Diffüz Tutulduğu Alt Grubun Diffüz Tutulum Olmayan (Distal veya Proximal Tutulum Olan) Alt Gruba Göre Gen Ekspresyonlarının Karşılaştırılması	58

Tablo 16 Ex Olan Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi	59
Tablo 17 Yaşayan(Ex Olmayan) Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi	60
Tablo 18 Ex Olan Hasta Alt Grubunun Yaşayan Hasta Alt Grubuna Göre Gen Ekspresyonların Karşılaştırılması	61
Tablo 19 Hp Pozitif Atrofik Gastritli Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi	62
Tablo 20 Hp Negatif Atrofik Gastritli Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi	63
Tablo 21 Hp Pozitif Atrofik Gastritli Hastaların Hp Negatif Atrofik Gastritli Hastalara Göre Gen Ekspresyonların Karşılaştırılması	64

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	Mide Anatomisi	3
Şekil 2	İntestinal Tip Mide Kanserinde Multistep Patogenez	10
Şekil 3	Nukleozom-Histon Modeli	28
Şekil 4	Mide Kanseri ve Kontrol Gruplarının Gen Ekspresyonu Karşılaştırılması	48
Şekil 5	Atrofik Gastrit ve Kontrol Gruplarının Gen Ekspresyonu Karşılaştırılması	50
Şekil 6	Atrofik Gastrit ve Mide Kanseri Fold Change Grafisi	50
Şekil 7	Gen Ekspresyonunun Clustergram ile Düzeyi	51

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1	Mide Kanseri Tutulum Lokalizasyonuna Göre	45
Grafik 2	Mide Kanserli Hastalarda Metastaz Lokalizasyonu	45
Grafik 3	Mide Kanseri Hastalarında Survi Oranları	46
Grafik 4	Atrofik Gastritlerde Hp Pozitifliği	46

KISALTMALAR LİSTESİ

EBV	: Epstein-Barr Virüs
VacA	: Vacuolating Cytotoxin
CagPAI	: Pathogenicity Island Cytotoxin-Associated Gene
CagA	: Sitotoksin ile İlişkili Gen A
NO	: Nitrit Oksit
Ag	: Atrofik Gastrit
IM	:İntestinal Metaplazi
Hp	: Helikobakter Piloni
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
HP1	: Heterokromatinin Protein 1
CBX3	: Chromobox Homolog 3
CBX7	: Chromobox Homolog 7
NSD1	: Nuclear Receptor Binding Set Domain Protein 1
PcG	: Polycomb Group
ARID1A	: At-Rich İnteractive Domain 1A
MSI	: Microsatellit İnstabiliti
MMR	: Mismatch Tamir Genleri
RT-PCR	: Revers Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyon
CtBP1	: C-Terminal Binding Protein 1
MTA1	: Metastasis Associated 1
TGF-β	: Transforming Growth Factor Beta
ING5	: Inhibitor of Growth Family Member 5
EED	: Embryonic Ectoderm Development
EZH2	: Enhancer of Zeste 2 Polycomb Repressive Complex 2 Subunit
PRC	: Polycomb Repressive Complex 2 Subunit

NSD1 : Nuclear Receptor Binding Set Domain Protein

I. GİRİŞ

Mide kanseri tüm dünyada önemli bir komorbidite ve mortalite nedenidir. Son yüzyıl içerisinde sıklığında azalma gözlenmekle birlikte kansere bağlı ölümler içerisinde mide kanseri dünyada 2. sırada yer almaktadır. (1,2)

Mide kanseri histolojik olarak Lauren klasifikasyonuna göre intestinal ve diffüz tip olarak sınıflandırılır. (3) Epidemiyolojik olarak intestinal tip kanser, çevresel ve diyetel faktörlerle belirgin şekilde ilişkili olup, progresif multifokal atrofik gastrit ve intestinal metaplazi süreçlerinden geçerek ortaya çıkmaktadır. (4)

Atrofik gastrit midenin değişik bölümlerinde normalde olması gereken bezlerin kaybı ve bunların yerini başka doku ve bezlerin almasıdır. Atrofik gastritin en sık iki nedeni otoimmün ve Hp enfeksiyonudur.

Atrofik gastrit intestinal metaplazi alanlarıyla sıklıkla birlikte ve gastrik kanser yönünden artmış risk taşır. (5) Atrofik gastrit olgularının %10'unda 10-20 yıllık süreçte mide kanseri gelişebilmektedir. (6)

İntestinal tip mide kanseri birçok genetik mutasyon ve hücre transformasyonun son evresi olarak ortaya çıkar. Kronik gastrit bu olayda başlatıcı ve gerekli bir olaydır. Eğer gastrit devam ederse atrofi ve devamında intestinal metaplazi gelişir. Bu durum neoplaziye kadar giden zinciri başlatır. (7)

Mide kanseri açısından risk faktörlerine bakıldığında çevresel faktörler ve diyet, iyonize radyasyon, Helikobakter pilori enfeksiyonu, intestinal metaplazi, displazi, kronik atrofik gastrit, adenomatöz paternde gastrik polip, sigara ve alkol kullanımı, gastrik cerrahi öyküsü (özellikle Billroth 2), genetik ve epigenetik faktörler risk faktörü olarak saptanmıştır.

Kanser, genetik ve epigenetik hataların birikimiyle ortaya çıkan ve normal hücrenin metastazik tümör hücresine dönüşmesiyle sonuçlanan çok basamaklı bir olaydır. (8) Epigenetik modifikasyonlar, uzun dönem gen

ifadesinin susturulmasında kullanılan bir mekanizmadır ve dokuya ya da gelişim evresine özgül farklı gen ifadesi paternlerinin sağlanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Mide karsinogenezisinde epigenetik mekanizma olarak kromatin yeniden modellenme sisteminin de rol aldığı düşünülmektedir. Kromatin yeniden modellenmesi kontrollu gen ekspresyonu yoluyla ve regülatör transkripsiyon proteinlerinin kondanse genomik DNA'nın girişine izin vermek için kromatin mimarisinin dinamik modifikasyonudur. Kromatin yeniden modellemesi DNA replikasyonu, DNA tamiri, kromozom segregasyonu, apoptozis, gelişim ve pluripotensi gibi önemli biyolojik proseslerde epigenetik bir rol oynar. Kromatin yeniden modelleme proteinlerindeki aberasyonlar kanseri de içeren bir çok hastalıkla bağlantılıdır. (9,10)

Yeniden modelleme prensip olarak 2 grupta sınıflandırılmıştır.

- 1- Spesifik enzimler tarafından (histon asetiltransferazlar-HATs, deasetilazlar, metiltransferazlar ve kinazlar) kovalent histon modifikasyonları
- 2- ATP ye bağlı kromatin yeniden modellenmesi kompleksleri.

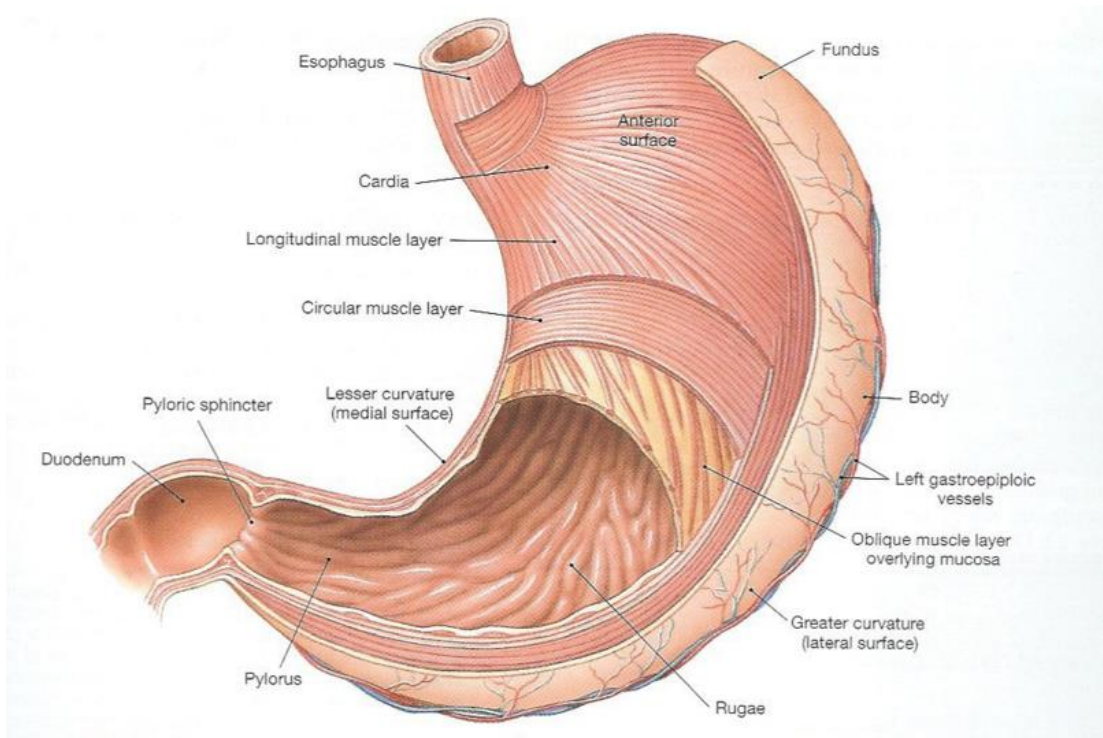
Kromatin yeniden modellenme mekanizmasındaki genlerin ekspresyon profillerine göre kromatin yapısının bozulması yani epigenetik dengenin bozulmasının mide kanserinin prognozu ve tedavi tepkilerindeki farklılıkların açıklanması açısından önemli olacağını düşünmekteyiz. Araştırmamızda hem çalışmaların az oluşu hem de mide kanserlerinde erken tanının tedavi ve maliyet kolaylığı getirmesi sebebiyle kromatin yeniden modellenme genlerinin mide kanseri ve atrofik gastritli olgularda ekspresyon profillerinin araştırılması amaçlanmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

2.1 Mide Kanseri

2.1.1 Midenin Anatomisi

Anatomik olarak mide; özofagus ile duodenum arasında yer alır. Kardiya, fundus, korpus, antrum ve pilor olmak üzere beş bölgeye ayrılır. Mide, yukarıda alt özofagiyal sfinkteri, aşağıda ise pilor sfinkteri ile kontrol altına alınmıştır.



Şekil 1. Mide anatomisi (11)

Histolojik olarak midede 5 katman mevcuttur. Lümeniden dışarıya doğru katmanlar mukoza, submukoza, muskularis propria, subseroza ve seroza şeklindedir.

2.1.2 Mide Kanserinin Epidemiyolojisi

Mide kanserleri tüm dünyada yaygın olarak görülen önemli mortalite ve morbidite nedenidir. Dünya çapında görülen tüm kanserlerin yaklaşık %10'unu oluşturur. (12) Son yıllarda görülme sıklığı azalmakla birlikte halen dünyada en çok rastlanan dördüncü kanser türü ve akciğer kanserinden sonra ölüme neden olan en sık kanserdir. (1,2) Tahmini dünyada her yıl 870.000 yeni vaka ve mide kanserine bağlı 650.000 ölüm görülmektedir. (13)

Mide kanserinin insidansı farklı coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. En az görülen bölgeler Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve çoğu Afrika ülkesi olurken en çok görülen bölgeler ise Doğu Asya, Doğu Avrupa ve Güney Amerika olmuştur. Mide kanserlerinin %70'i gelişmiş ülkelerde meydana gelir. (14) Aynı bölge içinde farklı etnik gruplar arasında görülme sıklığı arasında önemli farklılıklar vardır.

Mide kanseri, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde erkeklerde daha sık görülür. Dünya genelinde kadın erkek oranı 1/2'dir. İleri yaşta olan ve sosyoekonomik durumu düşük olan kişilerde daha sık görülür. (14)

Türkiye de ise insidans bölgelere göre farklılık göstermektedir. Ülkemizde erkeklerde akciğer kanserinden sonra en sık görülen kanser türüdür. 100000'de 9,6 vaka insidansı ve tüm tümörler arasında yüzde 8,7 oranındadır. Kadınlarda ise meme ve kolorektal kanserlerden sonra 3. sırada yer alır. 10000'de 5,7 vaka insidansı ve tüm kanserler arasında yüzde 6.87 oranında görülmektedir. Türkiyede ortalama görülme yaşı 56'dır. (12,14).

Mide kanseri dünyada görülme sıklığı son yıllarda azalmıştır. (15) Azalmanın önemli nedeni Helikobacter pilori (Hp), diyet ve çevresel riskler gibi bazı risk faktörlerinin tanınması sayesinde olabilir. Görülme sıklığında düşüşe rağmen, dünya nüfusu yaşlanmasına bağlı olarak yıllık yeni vaka sayısı esas olarak artmaktadır. Ayrıca nedeni kesin olarak bilinmeyen bir

şekilde azalan insidansa rağmen eğilim son yıllarda genç hastalarda bir artış trendi almıştır. (16) Böylece, mide kanseri öngörülebilir gelecekte kanser ve kansere bağlı ölümlerin önemli bir nedeni temsil etmeye devam edecektir.

2.1.3 Mide Kanseri Risk Faktörleri

2.1.3.1 Çevresel Faktörler:

Diyet:

2007 yılında tuz ve tuzlu yiyeceklerin mide kanseri için muhtemel risk faktörleri olarak sınıflandırıldı. Ayrıca tuzdan zengin gıdalar, Hp enfeksiyon olasılığını da arttırmaktadır. Hayvan deneylerinde tuzlu ve tuzlanmış gıdaların, midenin mukozal bariyerini bozduğu ve gastrite neden olduğu, buna bağlı bazı karsinojenlere karşı mukozal hassasiyetin arttığı gösterilmiştir. (17,18)

Diyet, sigara, diğer çevresel faktörlerdeki NO-nitrozo bileşikleri, midede prekanseröz gastrik lezyonların artmasına neden olur. (19) Gıdalarda katkı maddesi olarak bulunan nitrat ve nitritin biyolojik aşamalar sonucunda metabolize olmasıyla ve dayanıklılığın artırılması amacı ile et ürünlerine, balık ve peynire ilave edilen nitrit tuzlarının gıdaların içeriğindeki aminlerle reaksiyona girmesi sonucu NO-nitroza bileşiklerine maruz kalınır. (20)

Sebze ve meyve tüketilmesinin mide kanseri oluşumuna karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir. (21) Bu gıdalarda bulunan C vitamini antioksidan etkiye sahiptir ve mide dokusunda reaktif oksijen ürünlerinin üretimini baskılar. Bunun yanında midede N-nitroza bileşiklerinin üretimini inhibe eder.

Obezite:

Vücut kitle indeksi (BMI) ≥ 25 kg/m² olanlarda artmış mide kanseri riski vardır. BMI artışı ile mide kanseri riski doğru orantılıdır. (22)

Sosyoekonomik Durum:

Distal gastrik karsinomalar, düşük sosyoekonomik bölgede yaşayanlarda, proksimal gastrik kanserler ise yüksek sosyoekonomik bölgede yaşayanlarda daha sık görülmektedir. (23)

Mide ameliyatından 15 ile 20 yıl sonra mide kanseri riskinde büyük artış olur ve ardından zamanla risk oranı artar. (24)

İyonize Radyasyon:

İyonize radyasyonun mide kanseri riskini 2-4 kat arttırdığını belirtilmektedir. (25)

Epstein-Barr virüs (EBV):

Dünyada %5-10 oranında mide kanseri, Epstein-Barr virüs (EBV) enfeksiyonu ile birlikte. EBV' nin nasıl kanser yaptığı bilinmemekle birlikte EBV ilişkili mide kanserlerinde kanser ile ilişkili genlerin promoter bölgelerinde metilasyon saptanmıştır. (26)

Helikobakter Piloni (Hp):

Hp, intestinal tip ve diffüz tip mide kanserine neden olmaktadır. Hp ile ilişkili preneoplastik durumlar, genelde intestinal tip mide kanserine neden olmaktadır. (27)

Hp'nin 4 majör virulans faktörü vardır; a) CagA, b) CagPAI (cag-pathogenicity island), c) VacA ve d) Diğer membran proteinleridir (OMPs).

Hp, CagA yoluyla growth faktör reseptörlerini aktive ederek proliferasyonu artırır, apoptozisi inhibe eder ve invazyonu artırır. CagA, E-cadherin'in proteolitik kırılmasına neden olarak intestinal farklılaşmayı olumsuz yönde etkiler. (28)

Hp, üreaz aracılı myozin II aktivasyonu yolu ile üreaz, proteaz, fosfolipaz, amonyum ve asetaldehid salgılayarak gastrik mukozal bariyeri bozar. (29)

Hp, reaktif oksijen yapımını indükler. Konakçının antioksidan savunma mekanizmalarını süprese eder ve oksidatif DNA hasarına neden olur. Endojen DNA hasarını artırarak, DNA'da nükleer ve mitokondrial mutasyon ve onarım aktivitesinde azalma yaparak, aberan DNA metilasyonu gelişerek, gastrik karsinogenezisin gelişmesine yardımcı olur.

Hp infeksiyonunda, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) oluşumu artmaktadır. Nitrik oksit (NO), mutajenik olup, epitelyal hücrelerin DNA'sında anormalliklere neden olarak kansere gidişte önemli rol oynamaktadır. (30)

MLST(Multilocus Sequence Typing) ile Hp'de 7 fenotip (Avrupa, Kuzey Amerika, Batı Afrika, Güney Afrika, Asya-Hindistan, Bangladeş, Thailand, Malezya, Avustralya ve Doğu Asya)saptanmıştır. Bu fenotiplerin, farklı davranış özellikleri mevcuttur. (28)

2.1.3.2 Konakçıya Ait Faktörler:

Kan grubu:

Mide kanserinin A kan grubunda sık olduğu bilinmektedir, ancak bunun kan grubu antijenleri ile ilgili olmadığı, genlerle ilgili olabileceği düşünülmektedir. (31)

Ailesel yatkınlık:

Mide kanseri vakaların çoğu sporadik olmakla birlikte % 1-3 kadarı aileseldir ve 3 ana sendrom içerir. Bunlar herediter diffüz mide kanseri, midenin proksimal polipi ve gastrik adenokanser ve ailesel intestinal midekanseridir. Bu ailelerde mide kanser yakalanma riski artmıştır ancak sadece HDGC genetik olarak açıklanmıştır. HDGC hastaların % 19–50 arasında E- kadherin genini kodlayan CDH1 mutasyonu saptanmıştır. (32)

Mide kanseri Lynch sendromu (kalıtsal dışı kolorektal kanser), familial adenomatoz polipoz (FAP) gibi kalıtsal kanser sendromları ile birlikteliği mevcuttur. Ayrıca Li-Fraumeni sendromu, Peutz Jeghers sendromu, çocukluk polip, kalıtsal meme ve yumurtalık kanseri sendromu, ve muhtemelen fosfataz ve tensin homologu (PTEN) hamartom tümörü (Cowden) sendromu gibi sendromlarda nadir de olsa bulunabilmektedir.

Mide kanseri için zemin oluşturan durumlar ve prekanseröz lezyonlar: Kronik atrofik gastrit, Menetrier hastalığı, pernisiyöz anemi, intestinal metaplazi, parsiyel mide rezeksiyonu sonrası geriye kalan mide kısmı, mide adenomları, epitelyal displazi sayılabilir.

2.1.4 Mide Kanserinde Patoloji ve Moleküler Patogenez

Mide kanseri çok farklı şekillerde sınıflandırılabilir (Tablo 1). Mide tümörleri arasında en sık rastlanılan adenokarsinomdur (%90-95). Sırasıyla lenfomalar (%4), karsinoidler (%3) ve mezankimal içsi hücreli tümörler (%2) gelmektedir. (33)

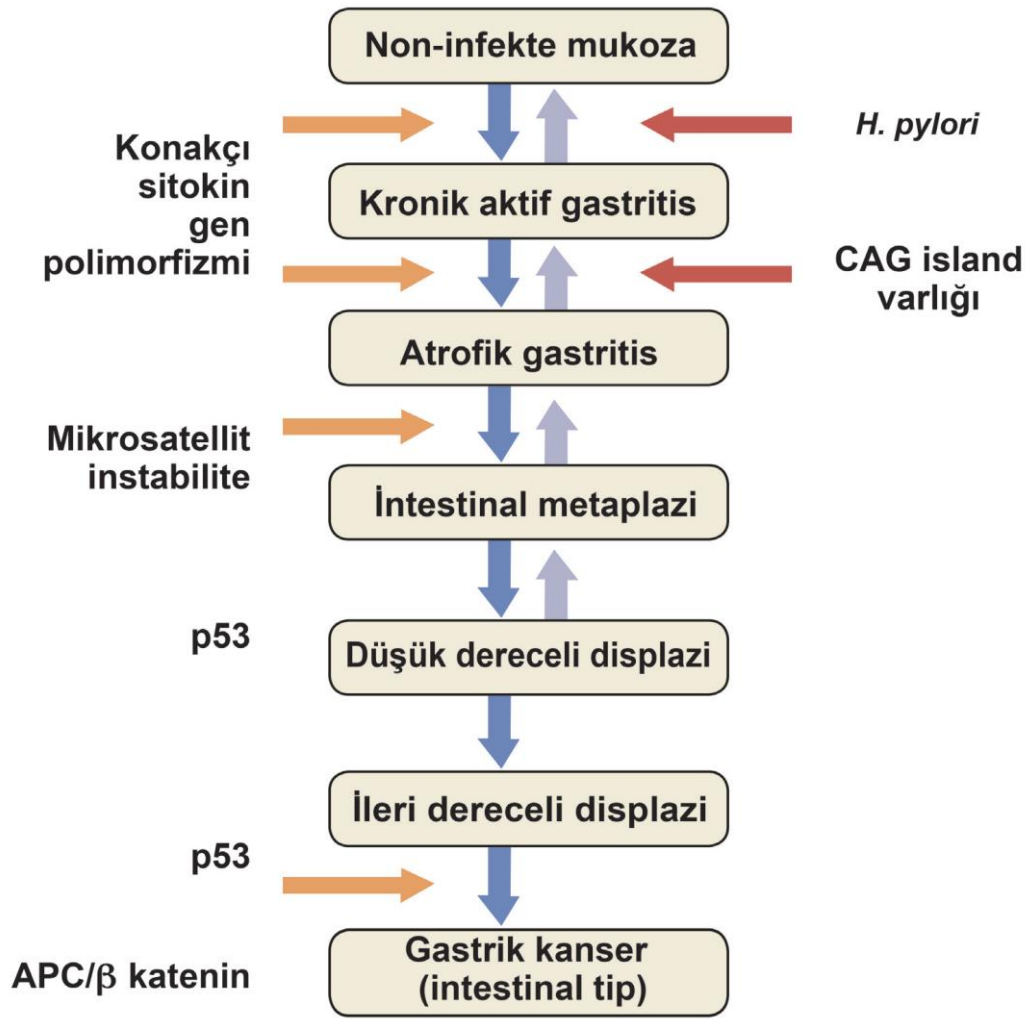
Adenokarsinomlar, Lauren sınıflamasına göre ikiye ayrılır: intestinal tip ve diffüz tip.

Diffüz mide kanseri; daha fazla metastatik özelliğe sahip kanserler olup, hızlı progresyon ve kötü prognoza sahiptir. (34) H. pylori ile indüklenebilir. Ancak intestinal tip mide kanserinde görülen preneoplastik değişiklikler, diffüz tip mide kanserinde görülmez. Mide duvarını daha fazla invaze eder, bazen de distal özofagus ve duodenuma da invaze olur, bazen de linitis plastikaya neden olur. CDH1 gendeki somatik mutasyonlar, sporadik diffüz mide kanserinde %40-83 arasında bulunmaktadır. (35)

Lokalizasyonuna göre	• Pilor-antrum bölgesi • Kardiya bölgesi • Korpus-fundus bölgesi
Diferansiasyon derecesine göre	• İyi diferansiye • Orta diferansiye • Az diferansiye
İnvazyon derinliğine göre	• Erken evre • İleri evre (invaziv)
Borrman sınıflaması	• Tip I (polipoid) • Tip II (ülseröz) • Tip III (ülsero-infiltratif) • Tip IV (diffüz infiltratif)
Dünya sağlık örgütü(WHO)sınıflaması	• Tubuler adenokarsinom • Papiller adenokarsinom • Müsinöz adenokarsinom • Taşlıyüzük hücreli karsinom
Lauren sınıflaması	• İntestinal tip • Diffüz tip • Mikst tip

Tablo 1: Mide Kanseri Sınıflandırılması

İntestinal tip mide kanseri; genelde, sporadik olup, herediter, diyet, sigara alışkanlığı, alkol kullanımı gibi çevresel faktörler ile ilgilidir. Son birkaç dekatta sıklığı giderek azalmaktadır. (36) Hp alınmasından kanser oluşuncaya kadar geçen zaman sürecinde, kronik aktif non-atrofik gastrit → multifokal atrofik gastrit → intestinal metaplazi (genelde komplet) → displazi ve invaziv kanser şeklinde kaskad gelişir. (Şekil 2) İntestinal tip kanserler genelde, ülseratif kitle halinde, incisura angularis'te veya buraya komşu antrum veya korpusda lokalizedir.



Şekil 2: İntestinal tip mide kanserinde multistep patogenez (37)

2.1.5 Erken Evre Mide Kanseri

Erken mide kanseri (EMK), Japon Mide Kanserini Araştırma Cemiyeti tarafından, 1963 yılında, regional lenf nodu tutulumuna bakılmaksızın mukoza veya submukozaya sınırlı mide adenokarsinomu (T1Nx) şeklinde tanımlanmıştır (38)

EMK, orijinal Borrmann sınıflandırmasında yoktur ancak son yıllarda Japon mide kanseri sınıflandırmasında tip 0 olarak sınıflandırılır. Japon sınıflandırması EMK'ni üç tipe ayırır:

Tip I (polipoid): Tümör mide mukozasından lümene doğru bir kabarıklık oluşturmaktadır. Tümör polipoid, nodüler veya villöz görünümde olabilir.

Tip II (düz-yüzeyel): Tümör mukoza yüzeyinden kabarık, çökük veya aynı hizada olabilir. Kendi içinde 3 alt gruba ayrılır.

II a: Tümör lümene doğru hafif bir kabarıklık gösterir.

II b: Tümör çevre mukoza yüzeyi ile aynı düzeydedir.

II c: Tümör çevre mukoza yüzeyine göre çöküktür.

Tip III (çökük): Görünüm olarak kronik peptik ülser benzer. Tümör ülserin kenarındadır veya altındadır.

Erken mide kanseri vakaları genelde ülser semptomları ile gelmektedir. Endoskopi ile sistematik ya da şüpheli yerlerden alınmış biyopsiler erken mide kanserinde tercih edilen tanı yöntemidir.

Endoskopide, erken mide kanseri ince polipoid çıkıntı, yüzeysel bir plak, mukozal renk değişikliği, depresyon ya da ülser olarak görünebilir. (39) Herhangi bir şüpheli lezyon biyopsisi ile tüm mide mukozasının dikkatli muayene esastır.

Erken gastrik kanser tanısı için günümüzde endosonografi incelemesi kaçınılmazdır. Endoskopik ultrasonografi mide duvarı ve katmanlarını gösterebildiği için erken mide kanseri tanısında önemli rol oynamaktadır, invazyon derinliği ve bölgesel lenf nodları iyi şekilde tanımlanabilir.

2.1.6 Mide Kanseri Semptomları

Mide kanseri erken evrede %80'den fazla oranda asemptomatiktir, bu nedenle tanısı gecikir. Semptomatik hastalarda en sık görülen şikâyetler epigastrik ağrı, bulantı, kusma ve halsizliktir. Erken evre mide kanserleri genellikle tarama programlarında ya da mide şikâyeti sonucu yapılan endoskopik incelemeler neticesinde saptanmaktadır. (40)

Kitlenin bulunduğu yere göre hastanın şikâyetleri çok farklı olabilmektedir bu da tanıyı zorlaştıran durumlardandır. Kardiyadaki tümörler yutarken takılma hissi, prepilorik yerleşimli tümörler ise sıklıkla bulantı, kusma ile başvururlar. Kilo kaybı ve iştahsızlık en sık rastlanan şikâyetlerdir. Epigastrik ağrı da görülebilir ve peptik ülserle karışabilir. Sürekli ağrı ileri evre mide kanserinin göstergesi olabilir. Hastalar nadiren hematemez, melena ile de başvurabilirler ancak gizli kanama daha sıktır. Karaciğer metastazına bağlı hepatomegali ve sarılık, periton metastazına bağlı asit, gizli kan kaybına bağlı anemi, beyin metastazına bağlı nörolojik bulgular, vertebra ve sinir metastazlarına bağlı sırt ağrıları da görülebilir

2.1.7 Mide Kanserinin Tanısı

Mide kanseri tanısında tercih edilen en seçkin yöntem endoskopidir. Görülen lezyondan şüphelenilse de kesin tanı için patolojik incelemeler gereklidir. Özafagogastro-duodonoskopi endoskopik biyopsi ile kombine edildiğinde sensitivite ve spesifitesi yüksek olmaktadır. Her lezyondan 10 veya daha çok sayıda biyopsi alınması ile tanısal doğruluk oranı %100'lere ulaşabilir. Doğru tanı oranı direkt olarak biyopsi sayısına bağlıdır. (40) Mide kanseri şüphesi olduğunda hemen tanısal değerlendirme yapılmalıdır.

Primer tümörün doku tanısı ve anatomik lokalizasyonu invaziv ve pahalı bir test olmasına rağmen en iyi üst gastrointestinal (GİS) endoskopi ile yapılır. Üst GİS endoskopi mide, özofagus ve duodenal lezyonların tanısında diğer diagnostik testlere göre oldukça sensitif ve spesifik testtir. Gastrointestinal şikâyetler ile başvuran hastalarda üst endoskopinin erken

kullanımı erken mide kanserlerinin tespitinin daha yüksek oranda olmasıyla ilişkili olabilir. Endoskopi sırasında biyopsi alabilmek tanıda bize yardımcı olur. Endoskopide herhangi şüpheli lezyondan biyopsi alınmalıdır.

Baryum çalışmaları hem malign gastrik ülser hemde infiltrate lezyonları tanımlayabilir ancak yanlış negatif sonuçlar görülebilir. Bunun için çoğu yerde üst endoskopi mide kanser şüphesi olduğunda ilk tercih tanı yöntemidir. Bilgisayarlı Tomografi (BT) mide kanserinin başlangıç tanısından çok metastaz değerlendirilmesi ve tedavinin belirlenmesi için tercih edilir. BT taraması 5 mm çapından daha büyük karaciğer metastazlarını belirlemek için faydalıdır. Manyetik Rezonans (MR) karaciğer metastazını saptamada bilgisayarlı tomografiye göre daha duyarlıdır. (41)

Endoskopik ultrasonografi ise tümör invazyonunun derinliğini saptamada ve mide komşuluğundaki lenf düğümünü değerlendirilmesinde çok yararlıdır.

2.1.8 Mide Adenokarsinomlarında Sınıflaması

TNM Tümör evreleme sistemi	
T: Primer tümör	
Tx	Primer tümör saptanamadı
T0	Primer tümöre ait bulgu yok
Tis	Karsinoma in situ
T1	Tümör lamina propria, muskularis mukoza veya submukozayı tutmuştur.
T1a	Tümör lamina propria veya muskularis mukozayı tutmuştur.
T1b	Tümör submukozayı tutmuştur
T2	Tümör muskularis propriayı tutmuştur
T3	Tümör subserozayı tutmuştur, visseral periton, komşu organ tutulumu yok
T4	Tümör seroza(visseral periton), komşu organları tutmuştur:
T4a	Tümör seroza(visseral periton)u tutmuştur
T4b	Tümör komşu organları tutmuştur

N: Bölgesel lenf nodları	
Nx	Bölgesel lenf nodları saptanamadı
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	1-2 lenf nodu metastazı
N2	3-6 lenf nodu metastazı
N3	7 veya daha çok lenf nodu metastazı
N3a	7-15 lenf nodu metastazı
N3b	16 veya daha fazla lenf nodu metastazı
M: Uzak metastaz (M)	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz

Tablo 2: Mide Kanseri TNM Evreleme Sistemi (American Joint Committee on Cancer: AJCC 2002)

Evre	T	N	M
I	T1	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
II	T1	N2	M0
	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
III	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4	N0	M0
IV	T4	N2	M0
	Tx	Nx	M1

Tablo 3: Mide Kanseri Evreleme Sistemi (American Joint Committee on Cancer: AJCC 2002)

2.2 Kanser Genetiği

Kanser, normal büyüme ve farklılaşmayı sağlayan mekanizmalar üzerindeki kontrolün kaybolması nedeniyle değışime uğramış bir hücrenin sınırsız çoğalması sonucu gelişen bir hastalıktır.

Genetik dağarcıkta hücrelerin klonal olarak çoğalması, farklılaşması, bağımsız fakat koordineli fonksiyonlara sahip olması, organizmanın bir bölümünden farklı bir bölümüne taşınması, hasarlanma sonrası onarım olması veya olmaması için gerekli bilgilerin tümü bulunmaktadır.

Fizyolojik koşullarda belli bir kontrol altında gerçekleşen bu işlemler bu fonksiyonların düzenlenmesinde hayati öneme sahip olan belli bir grup genin anormal fonksiyonu sonucu bozulmuştur.

Kanser oluşumunda etkili başlıca 2 tip gen mevcuttur:

Onkogenler:

Protoonkogenler, normal hücre büyümesi ve çoğalmasını kontrol etmekte olan proteinleri kodlayan genlerdir. Protoonkogenler kendiliğinden ya da dış mutasyonlar sonucu farklılaşmaya ve normalden fazla ifade edilmeye başlarsa bu o hücrede kontrolsüz büyümeye neden olur ve bu süreç kansere neden olur.

Onkogenler protoonkogenlerin mutasyona uğramış formlarıdır. Onkogenler, onkoprotein adı verilen proteinleri kodlar. Onkoproteinlerin çoğunluğu hücre çoğalması ve hücre düzenleyicisi olarak görev yaparlar. Bu proteinler: Polipeptid büyüme faktörleri, büyüme faktörü reseptörleri, hücre içi sinyal yollarının üyeleri ve transkripsiyon faktörleridir.

Bu proteinlerin aşırı ekspresyonu ya da aktivitelerinde artış kanser hücresinin kontrolsüz çoğalmasına neden olabilmektedir (42)

Tümör Süpresör Genleri:

Hücre çoğalmasında negatif yönde rol oynayan genlerdir. Proliferasyonu doğrudan baskılayan tümör süpresör genlere bekçi 'gatekeeper' tipi genler denmektedir. Bekçiler hücre siklusunu denetlerler, hücreyi apoptozise yönlendirirler. (43) Tümör süpresör genlerinde ortaya çıkan işlev kaybettirici mutasyonlar da hücrede kontrolsüz çoğalmaya yol açarlar.

Hücre çoğalmasını doğrudan baskılayan bekçi tipi tümör süpresör genlerden başka, dolaylı etki gösterenler de vardır. Bunlara da bakıcı 'caretaker' tipi tümör süpresör genleri denir. Bakıcılar genomun bütünlüğünden sorumlu DNA tamir genleridir ve mutasyon oluşumunu engellerler. Bu genler işlev kaybettirici bir mutasyona uğradığında, genom boyunca mutasyonlar ortaya çıkmaya başlar, yani genomik instabilite gelişir. Genomik instabilite ayrıca bekçi tipi tümör süpresör genleri ve protoonkogenlerin mutasyona uğramasıyla da sonuçlanabilir.

Kanser oluşumun da bir başka hipotez de Knudson 'un iki vuruş hipotezi olup bu hipoteze göre, malign dönüşümün oluşabilmesi için organizmada tümör baskılayıcı genlerin iki aleli nin de işlev kaybetmesi gereklidir. Bu iki vuruşun birinin genetik diğ erinin epigenetik ya da her ikisinin de genetik ve ya epigenetik olabileceği bilinmektedir.

2.3 Mide Kanseri ve Genetik

Mide kanserinde genetik olaylar çok önemli rol oynar. Mide kanseri patogeneğinde gelişen önemli genetik değ işimler; onkogenlerde, DNA tamir genlerinde, tümör süpresör genlerinde, hücre siklus düzenleyicilerinde ve sinyal moleküllerinde multipl genetik ve epigenetik değ işiklikler şeklinde olmaktadır (44,45).

Onkogenler

Mide kanserinin değişik evrelerinde birçok onkogen tanımlanmıştır (44,46)

K-ras onkogen, intestinal mide kanserlerinde, intestinal metaplazide ve adenomda mutasyon (kodon-12) saptanmış ancak diffüz mide kanserinde ise saptanmamıştır. Kodon 12 ve 13 deki K-ras mutasyonlar mide kanserlerin ortalama yüzde 5'inde bulunmuştur ve genelde iyi diferansiye intestinal tip mide kanserinde saptanır. (47,48)

CagA(onkoprotein), c-met reseptör sinyal transdüksiyonunu modüle ederek mide kanserinin başlamasına ve tümör progresyonuna neden olur. Met onkogeni hepatosit büyüme faktörü reseptörü bağlayan transmembran tirozin kinaz reseptörünü kodlar ve intestinal tip mide kanseri ile karşılaştırıldığında yaygın tip mide kanserinde daha sık oranda rastlanır. (49)

K-SAM [fibroblast büyüme faktörü reseptör2 (FGFR2)] amplifikasyonu diffüz tip mide kanserinde saptanmıştır. FGFR2 overekspresyonu bir çalışmada mide kanserinde kötü prognoz göstergesi olarak saptanırken, (50) başka bir çalışmada prognozla ilişkisi saptanmamıştır. (51)

HST-1 (fibroblast büyüme faktörü 4) mide kanserinde ilk tespit edilen onkogendir ve metastatik mide kanseri ile ilişkilidir. (52)

Fibroblast büyüme faktörü ve FGFR düzeyi undiferansiye mide kanserlerinde artmıştır ve tümör boyutu ve evresi ile ilişkilidir (53)

C-erbB2 veya HER2 / neu olarak da bilinen insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2), bilinen herhangi bir liganda sahip olmayan bir tirozin kinazdır. HER2 amplifikasyonu ve overekspresyonu intestinal tip mide kanserinde % 27 oranında, diffüz tipte ise nadiren bildirilmiştir. (54)

Tümör Süpresör Genler

İntestinal tip mide kanserinin yaklaşık yarısında TP53, TP73, adenomatoz polipozis koli (APC), trefoil faktör ailesi (TFF), DCC, kırılğan histidin triadı (FHIT) gibi tümör süpresör genlerde değışiklikler bildirilmiştir. (53)

P53, hücre siklüs kontrolü, DNA onarımı ve programlanmış hücre ölümünde görev alan nükleer proteindir. P53 mide kanserlerinde sıklıkla mutasyona uğrayarak ya da heterozigosite kaybı ile inaktive edilir. P53 mutasyonları farklı histolojik tiplerde aynı oranda görülmekle birlikte mide kanserlerinde ortalama yüzde 60 oranında saptanan, en sık mutasyona uğramış gendir. (55)

Hp ile ilişkili kronik gastrit, intestinal metaplazide ve displazide de P53 geninde anormallikler bulunur. P53 Hp etkileşimi tam olarak bilinmemektedir ancak P53, mikroçevresel kronik inflamatuvar strese cevapta, düzenleyici anahtar bir moleküldür. (56) Bazı araştırmacılara göre, gastrik epitelyal hücrelerde P53'ün inaktivasyonu Hp'ye bağılı oluşan hasara cevapta hücrenin apoptozise gidişini azaltır.

RUNX3 apoptoz, hücre büyümesi ve anjiyogenezi düzenleyen transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir. RUNX3 mide kanserlerin yüzde 50'sinde saptanır ve iyi prognozla ilişkilidir. (57) RUNX3 geni promoter bölgesinin hipermetilasyonu ile inaktive olur. (58)

P53 ile ilişkili transkripsiyon faktörü olan P73 tümör süpresör gen gibi davranır. (59) EBV ile ilişkili mide kanserlerinde epigenetik mekanizmalara bağılı P73 ekspresyon kaybı görülebilir. (60)

P73'un overekspresyonu veya onkojenik deltanp73 formu P73'un gastroepitelyal kanser hücrelerinde transkripsiyonel ve apoptatik aktiviteyi baskılar ve hücre içi beta katenin seviyelerini artırır. (61)

APC; β -katenin, aksin ve iskelet regülatörleri EB1 gibi komponentleri olan WNT sinyal yolağı proteinlerindeki içeren birçok protein bağlanma bölgesi içeren multidomain proteindir. APC hücre adezyonu, hücre göçü, kromozomların iğsi formasyon oluşumu ve kromozomların ayrılmasında çok önemli bir rol oynar.

APC mutasyonları mide kanserinde 2. sıklıkta görülen mutasyonlardır. Bu mutasyonlar, Hp ile ilişkili intestinal metaplazi ve displazide de bulunur. İyi ve orta derecede diferansiye intestinal tip mide kanserlerinde yüzde 20-30 oranında bulunurken diffüz tip mide kanserlerinde yüzde 2 oranında bulunur. (62)

Hücre Siklus Düzenleyici Moleküller:

SiklinE ve siklin bağımlı kinaz inhibitör 1B (CDKN1B, p27), G1 /S geçişinde görev alan önemli 2 hücre siklus regülörleridir. Mide kanserlerinde Siklin E overekspresyonu sık görülen bir olaydır, hem displazinin malign transformasyonuna dönüşümünde ve hem de invaziv kanserde tümör agresifliğinde rol oynadığı için bir indikatör olabilir. (63,64)

Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 1B(CDKN1B) ifadesinin azalması da invaziv mide kanserinde olumsuz prognoz ile ilişkilidir. (65,66) CDKN1B ekspresyonunun kaybının artışı Hp enfekte farelerde gastrik kanserde artışa neden olduğu bildirilmiştir. (67)

İnvazyon ve Anjiogenezis:

E-cadherin; hücre motilitesi, büyümesi ve kanser invazyonunda önemli rol oynar. Metastaz gelişiminde VEGF rol almakta olup, VEGF-A, mide kanserinin kemik metastazında, VEGF-D ise lenfatik metastazda rol oynar.

micRNA (micro RNA):

Mikro RNA(micRNA)'lar transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun regüle eden kodlayıcı olmayan küçük RNA 'lardır.

micRNA'lar; proliferasyon, apoptozis, differansiasyon, anjiogenezis, metataz ve immun cevapta rol oynar. (68,69) Onkojen ve tümör süpresör gen gibi, fonksiyonlara sahiptir ve son yıllarda micRNA'ların, birçok kanserin gelişiminde önemli rol oynadığı gösterilmiştir.

Mide kanserlerinde miR-21, miR-106a ve miR-17 upregule (onkojenik etki), miR-101, miR-181, miR-449, miR-486 ise downregule (tumor supresor etki) saptanmıştır. (37)

Genetik Polimorfizm

Mide kanserinde belli polimorfizmler mevcut olup IL-1 beta (IL-1B) gen ve IL-1 reseptor antagonist gen (IL-1RN*2/*2) polimorfizmi, MTHF reduktaz polimorfizmi mide kanserinde artış ile birlikte bulunmuştur. (37)

Kromozomal İnstabilite (CIN):

DNA tamiri, hücre bölünmesi sırasında kromozomların ayrılması sırasında veya hücre siklusu kontrol noktalarında meydana gelen hatalara bağlı olarak, kromozomlarda anomali gelişme ihtimalinin artmasıdır. Özellikle, sporadik mide kanserlerinde kromozomal instabilite saptanır. (70)

Microsatelit İnstabilite(MSI):

MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 gibi DNA mismatch tamir genlerinde eksiklik veya inaktivasyon olan hastalarda DNA replikasyon hataları tamir edilemez ve bu da DNA sentezi sırasında normal DNA da görülmeyen yeni allelelerin oluşmasına neden olmakta ve buna MSI denmektedir. DNA replikasyonu sırasında yanlış baz eşleşmesi, insersiyon ve delesyon gibi replikasyon hatalarına neden olan durumlar gözlenebilir. Bu da MSI gelişimi ile sonuçlanır. Dolayısıyla MSI, DNA replikasyonundaki hasarlar sonrası oluşur, mide kanserinde ortalama %15-38 oranında saptanır. (71) Ailesel, distal tutulum olan ve yaşlılarda görülen mide kanserlerinde daha sık saptanır. (72) Mide kanserlerinde MSI saptananlar daha erken evrelerde

tanı konulabilir ancak bazı çalışmlarda MSI ile yaşam süresi arasında bir ilişki saptanmamıştır. (73)

2.4 Kronik Gastrit

Kronik gastritin en sık iki nedeni H. pilori gastriti ve otoimmün gastrit sayılabilir. Farklı etyolojiler olsalar da sonuçta atrofik gastrite yol açan kronik gastrit tablosuna neden olmaları premalign lezyon olarak kabul edilmeleri için yeterli görülür.

Kronik Hp gastriti her ne kadar Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) tarafından Hp 1. sınıf kanserojen kabul edilse de, Hp gastriti olan popülasyonun sadece %1-3 kadarı mide kanseri riski altındadır. Bu da genetik, kişisel ve çevresel faktörlerin de rol oynadıklarını göstermektedir. Kronik Hp gastriti hem diffüz hem de intestinal tipte mide kanserleri için risk faktörüdür, ancak diffüz tipte premalign lezyon izlenmezken, intestinal tipte klasik atrofi-metaplazi-displazi ilerlemesi görülür.

Otoimmün gastrit tüm kronik gastritlerin %5'ini oluşturmaktadır. İmmün ilişkili oksintik mukoza kaybı ve pariyetal hücre kaybı ile karakterizedir. Pernisiyöz anemi gelişirse mide kanseri riski 3 kat artmaktadır. (74)

2.5 Atrofik Gastrit

Pariyetal ve esas hücrelerin kaybı ile karakterize, genelde diffüz glandüler epitel kaybının görüldüğü bir patolojidir. Metaplazik atrofide ise olması gereken bezlerin yerini başka bezler almıştır.

Atrofik gastritin en sık iki nedeni otoimmün ve Hp enfeksiyonudur. Otoimmün kaynaklı olanda antral mukoza genelde korunurken Hp gastritinde multifokal atrofi söz konusudur. Atrofik gastrit intestinal metaplazi alanlarıyla sıklıkla birlikte dir. Atrofik gastrit mide kanseri riskini artırır. (75) Bunun yanı sıra sadece metaplazik atrofilerin gastrik adenokarsinom için öncül lezyonlar olduğu da iddia edilmiştir. (76)

Hp atrofik gastrit ve intestinal metaplazi için en önemli risk faktörüdür. Atrofik gastrit intestinal metaplazinin öncülü kabul edilir ve böylece risk faktörleri aynı gibi kabul edilmekle birlikte bakteriyel etkiler atrofik gastrit, çevresel ve konakçı faktörler intestinal metaplazi etyolojisinde daha çok rol oynar.

Midede asit üretiminin azalması ile yükselen pH'nın etkisiyle bakteri kolonizasyonu olmakta ve bakteriyel nitrat redüktaz enzimi nedeni ile genotoksik nitrozaminler ortaya çıkarak uzun vadede kanser nedeni olmaktadır. Atrofi oluşumu ile erken dönemde glandüler kayıp izlenirken, geç dönemde bu glandüler kayıp yerini metaplastik epitele bırakır.

Güncellenirilmiş Sydney sınıflamasına göre atrofi derecelendirilmesi hafif, orta ve belirgin olmak üzere 3 kategoriye sınıflandırılmıştır. Hafif formda glandlarda sporadik intestinalizasyon vardır, belirgin formda yaygın intestinalizasyon gözlenir, orta form ise her ikisinin arasındadır. (77) 2000 yılında New Orleans'ta atrofi için yeni bir sınıflama yapılmıştır. Bu sınıflamaya göre: atrofinin olmaması, kesin olmayan atrofi ve kesin atrofi olarak üç parametre oluşturulmuş, kesin atrofi de metaplazik ve nonmetaplazik olarak ikiye ayrılmıştır (78)

2.6 İntestinal Metaplazi

Midede en sık görülen metaplazi tipi olup mide mukozasının ışık ve elektron mikroskopik olarak bütün özelliklerini taşıyan intestinal epitel ile yer değiştirmesi intestinal metaplazi (IM) olarak adlandırılır. Bu durumun mide epitelinin mide asidinden korunmak amacıyla oluşturduğu bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Midede ince bağırsak mukozasının IM' de mide mukozasında bulunmayan, barsak mukozasında bulunan; goblet ve paneth hücreleri, emici hücreler, silialı hücreler bulunabilmektedir.

Jass-Filipe sınıflamasına göre intestinal metaplazi, komplet (Tip-I) ve inkomplet (Tip-II ve Tip-III) olmak üzere iki gruba ayrılır. İntestinal metaplazi

genelde foveolar bölgeden başlar. İntestinal metaplazide karsinom riski 10 kat artmıştır. (79)

2.7 Displazi

Displazi kanserden bir önceki aşama olup erken tanı ve histopatolojik evreleme-dereceleme konuları nedeni ile önemli bir konudur. Histopatolojik olarak büyük, disorganize yerleşimli ve hiperkromatik nükleus ile metaplaziden kolayca ayrılan mide displazisi; düşük dereceli displazi (DDD) ve yüksek dereceli displazi (YDD) olarak ikiye ayrılabilir ve sırası ile %1-23 ile %60-85 oranında kümülatif olarak kanserleşme riskine sahiptir. Ayrıca YDD olan hastalarda eş zamanlı invaziv karsinom odakları da saptanabilmektedir. (80) Displazinin tanımlanması, takibinin yapılmasında ve histopatolojik anlamda ortak dil kullanılması adına Viyana, Padova, WHO ve Japon sınıflamaları yapılmıştır. 2010 yılında önerilmiş olan WHO sınıflaması (Tablo 4) Japon ve Batı sınıflamasını birleştirici özelliklere sahiptir ve kullanılması Avrupa Gastrointestinal Endoskopi Cemiyeti (ESGE) gibi uluslararası kuruluşlar tarafından teşvik edilmektedir.

Mide epitelyal neoplazisi-displazisi için WHO sınıflaması	Özellikler
İntraepitelyal neoplazi (displazi) negatif	Kronik atrofik gastrit ve intestinal metaplazi
İntraepitelyal neoplazi (displazi) tanımsız	İnflamasyonun eşlik ettiği reaktif veya rejeneratif atipinin olduğu durumlar
İntraepitelyal neoplazi (displazi) a)-düşük dereceli intraepitelyal neoplazi (displazi) b)-yüksek dereceli intraepitelyal neoplazi (displazi)	Lamina propria invazyon olmadan kısıtlı displazi örneklerinde displazinin düşük veyayüksek dereceli olduğu durumlar
İntramukozal invaziv neoplazi/intramukozal karsinom	Lamina propria invazyonu olan neoplazi
İnvaziv neoplazi-karsinom	Karsinom

Tablo 4.Displazi WHO sınıflaması (81)

Düşük dereceli displazi genellikle endoskopik ve histopatolojik takiplerde %40-75 oranında kendiliğinden regresyona uğrayarak kaybolmakla (74) birlikte %20-50 oranında kalıcı olmakta veya %1-10 oranında YDD'ye dönüşmektedir. Bu nedenle özellikle endoskopik incelemede >2 cm'den büyük ve basık-düz özellik taşıyan lezyonların endoskopik olarak agresif şekilde tedavi edilmeleri önerilir (82,83) endoskopik takipte tüm YDD lezyonlarının %25'inin 1 yıl içerisinde invaziv neoplazi haline ilerlediği göz önüne alındığında YD'nin çok daha riskli bir lezyon olduğu görülür. Bu lezyonlara en az mukozal rezeksiyon yapılarak müdahale edilmesi önerilebilir (84)

2.8 Epigenetik

Epigenetik; genotipik değişikliklerden kaynaklanmayan gen ekspresyonundaki farklılıkları inceleyen bilim dalıdır. (85) Belli genlerin aktivasyonunun ne zaman ve nasıl olacağını belirleyen moleküler temeli karmaşık bir olaydır. Epigenetik, DNA dizisindeki değişimlerle açıklanamayan gen fonksiyonundaki değişiklikleri inceler. Kalıtsal olup genetik olmayan fenotipik varyasyonları incelemektedir. Bu değişiklikler ile DNA dizisinde hiçbir değişiklik gerçekleşmemekte ancak hücre doğrudan etkilenmektedir. Epigenetik, en basit şekliyle çevre ve genetik arasındaki etkileşimdir. Epigenetik bize aynı genotip yapının nasıl farklı fenotiplere yol açtığının en iyi açıklamasını sunar.

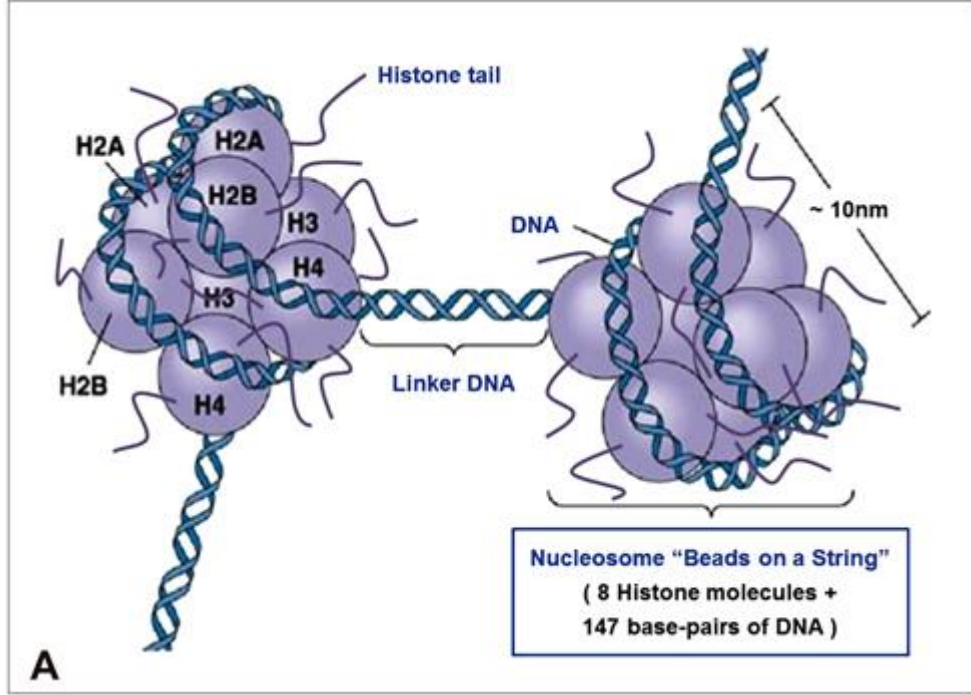
Yüksek derecede paketlenmiş haldeki DNA molekülünde nükleozom yapısına regülatör proteinler, genel transkripsiyon faktörleri ve RNA polimeraz ulaşmamaktadır. DNA molekülünde meydana gelen değişimler ve bazı protein komplekslerin yardımıyla nükleozom yapısında transkripsiyonun meydana gelebilmesi için çeşitli değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimler epigenetik mekanizmalarla gerçekleşmektedir.

Kromatin; Bölünme sürecine geçmekte olan hücrede, ışık mikroskopi altında yapılan incelemede, çekirdeğin içinde ince ipçiklerden oluşmuş, yumak biçimindeki bir ağ yapısına kromatin adı verilir. Kromatinde

Çekirdeğin metolizma bakımından çok aktif olan bölümüne ökromatin, metabolik bakımdan daha az aktif olan ve koyu renkli izlenen bölüme ise heterokromatin adı verilmektedir.

DNA ve proteinler çok yakın ilişkili içersinde olup kromatin yapısında; DNA ve DNA haricinde DNA'nın iki katı kadar protein bulunur . Proteinler DNA' nın sentezinde ve çekirdek içinde düzenlenmesinde görev alırlar. Hücre çekirdeğindeki bu proteinler, histon olmayan(asidik özellikte)ve histon(bazik özellikte) tipi proteinlerdir. Ökaryotik hücrede bulunan küçük moleküler ağırlığa sahip bu proteinler içeriklerdikleri lizin ve arjinine göre adlandırılır. H1 (H5 olarak adlandırılır), H2A, H2B, H3, H4 ve arkeal histonlar olmak üzere 6 alt tipi mevcuttur. Bu proteinler, DNA'nın farklı bölgelerine bağlanırlar. Genlerin aktivasyonu ve inaktivasyonunda görev alırlar. Histonları kodlayan genlerin mutasyonu ya da kontrolsüz ifade edilmesi kanser dahil olmak üzere birçok hastalıkta önemli rol oynamaktadır (85)

Nükleozom; DNA ipliğinin histonlar üzerine sarılması sonucu oluşan, 4'lü formda bulunan, kromatin üzerindeki nükleoproteinlerdir. Nükleozomlar, birbirlerinden linker ya da spacer DNA ile ayrılırlar. Herbir nükleozomda; H2A,H2B,H3 ve H4 histonlarından ikişer adet bulunmaktadır ve 4 nükleozomal protein H1 histonu tarafından sarılılır. Nükleozomların üst üste kıvrılması ve katlanması ile nükleozom paketleri oluşur. Kıvrımların daha da artması sonucunda kromatin ipliğinde yoğunlaşma gerçekleşir (85)



Şekil 3: Nükleozom-histon Modeli (86)

Epigenetik mekanizmalar doğrudan ve dolaylı olarak gen ifadesini kontrol eden mekanizmalar olarak ikiye ayrılır.

1- Dolaylı Yoldan Gen İfadesini Kontrol Eden Mekanizmalar: Post-transkripsiyonel mekanizmaları özellikle de nonkoding RNA'nın (siRNA, miRNA vb.) mRNA'yı etkileyerek protein sentezini engellemesini içerir.

2- Doğrudan Gen İfadesini Kontrol Eden Mekanizmalar: Bu mekanizmalar da kromatin ve DNA düzeyindeki modifikasyonlar olmak üzere ikiye ayrılır:

Kromatin düzeyindeki modifikasyonlar hem kovalent hem de non-kovalent olabilirler. Kromatin düzeyindeki kovalent modifikasyonlar histon modifikasyonlarıdır. Bu kovalent histon modifikasyonları (1) Asetilasyon, (2) Metilasyon, (3) Fosforilasyon, (4) Ubikitinasyon, (5) Sumolasyon 'dur. (103)

Non-kovalent kromatin modifikasyonları ise; (1) Histon takasları, (2) Histon katımları, (3) Kromatin onarımı, (4) Non-koding DNA ile etkileşim, (5) Diğer ajanlarla etkileşim (virüsler, farklı protein grupları), Uzun-mesafe

kromozom etkileşimleridir. (Hem kromozom içi hem de kromozomlar arası) (85)

DNA düzeyindeki modifikasyonlar; (1) Kovalent DNA modifikasyonu (DNA metilasyonu) (2) Non kovalent DNA modifikasyonu (3) Transkripsiyon faktörleri tarafından feed-forward oto regülasyon olmak üzere üçe ayrılır. DNA düzeyindeki modifikasyonlar arasından bilinen en işlevsel olanı DNA metilasyonudur.

2.8.1 DNA Metilasyonu

DNA metilasyonu en çok çalışılan epigenetik mekanizma olup, gen ifadesinin baskılanmasını sağlamaktadır. Embriyonik gelişim, transkripsiyon, X-kromozom inaktivasyonu, genomik “imprinting”in düzenlenmesi ve kromatin kararlılığının korunmasında fonksiyon görmektedir. (87) DNA metillenmesi DNMT(DNA metil transferaz)’ler tarafından gerçekleşir ve genel kural olarak CpG adacıklarında ve sitozinin 5 numaralı karbonunda meydana getirilir. Özellikle genlerin promotor bölgelerindeki metillenme, transkripsiyon faktörlerinin tanıma bölgelerinde değişiklikler meydana getirerek bu faktörlerin bağlanmasını engellemekte ve bu şekilde gen ifadesinin baskılanmasında rol oynamaktadır. Farklı dokularda farklı genlerin ifade olmasının temelinde bu düzenleme yatmaktadır. Genlerin promotor bölgelerindeki metilasyon seviyesinin düşük olması aktif gen ifadesi ile korelasyon göstermektedir (88)

CpG adacıkları ise yaklaşık 500 baz çifti uzunluğun olan genlerin promotor bölgelerinde bulunan ve %55’ten fazla CG içeren, metilasyon oranı düşük olan korunmuş dizilerdir. (89) DNA metilasyonunun genlerin ifadesini; transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını engelleyerek veya metilli DNA’ya bağlanan protein kompleksleri sayesinde kromatin yapısını değiştirerek baskıladığı düşünülmektedir.

DNA metilasyonu, kanser mekanizmasının oluşumunda ilerlemesinde ve metastaz yapmasındaki süreçte etkili olan bir epigenetik

mekanizmadır. Global DNA hipometilasyonu ve promotör DNA hipermetilasyonu olmak üzere kanserde iki şekilde etkili olmaktadır. (90)

Kanser oluşumunda kanser hücrelerinin tümör baskılayıcı genlerin, DNA onarım genlerinin, hücre döngüsünü kontrol eden genlerin ve gelişimde etkili yolların normal işlemlerini sağlayan genlerin hipermetilasyonu ile susturulduğu belirtilmektedir (91)

Promotor bölge hipermetilasyonu DNA'nın büyük oluşuna doğru çıkıntı yaparak bu bölgeyi tanınmaz hale getirir ve doğrudan baskılayıcı yapar. Dolaylı olarak baskılanma ise promotora bağlanacak transkripsiyon faktörlerinin tanıyacağı bölgeler metilsitozine bağlanan proteinlerin maskelenmesi yoluyla olmaktadır (91)

2.8.2 Kromatin Yeniden Modellenmesi

2.8.2.1 Histon Modifikasyonları

Bir genin ifade edilmesinde, histon proteinleri-DNA arasındaki paketlenmenin gevşemesi ve nükleozom yapısının yer değiştirmesi olarak bilinen yeniden modellenme rol oynamaktadır. (92) Histonlar DNA paketlenme proteinleri oluşumunu sağlamak dışında; posttranslasyonel N-terminal kuyruklarının, aminoasit spesifik asetilasyon, metilasyon veya fosforilasyon gibi kompleks modifikasyonu aracılığı ile belirli DNA zincirlerinin regüle ederler. Modifikasyonların histonların elektrostatik yükünü etkileyerek kromatin yapısını değiştirdiği ve protein kompleksleri için tanıma bölgesi oluşturduğu düşünülmektedir. Histonlar üzerinde yapılan bu değişiklikler, kromatinin yapısının gevşek ya da sıkı olma durumunu etkileyerek gen ifadesinde regülatör rol oynar. Böylece histon-DNA ve histon-histon ilişkisi etkilenmekte, DNA paketlenmesi, replikasyonu, tamiri ve gen ifadesinin kontrolü gibi birçok biyolojik olay kontrol edilebilmektedir. (93-95)

Histon modifikasyonları asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon ve ubiquitinasyon ile gerçekleştirilir. Üzerinde en çok çalışılan histon

modifikasyonu asetilasyon olup histonların asetilasyonu histon asetil transferaz (HAT) ve histon deasetilaz (HDAC) enzimleriyle tarafından düzenlenmektedir (Şekil 2). Histon proteininin amino ucuna negatif yüklü asetil grubunun takılmasıyla pozitif yüklü lizin aminoasiti yükünü kısmen kaybetmekte böylelikle kromatinde gevşeme meydana gelmekte, transkripsiyon faktörlerinin genlerin promotor bölgelerine ulaşmaları kolaylaşmakta ve bu sayede transkripsiyon gerçekleşmektedir. Asetilasyon geri dönüşümlü bir olaydır. Lizin aminoasitinden asetil grubunun çıkartılmasıyla kromatin yapısı tekrar kondense olmakta ve transkripsiyon baskılanmaktadır. (94)

Kromatinin belli bir bölgesinde histonların asetile olması, o bölgenin transkripsiyonel açıdan aktif olduğunu gösterirken, deasetile olması transkripsiyonun baskılandığını göstermektedir. (94)

2.8.2.2 ATP Bağımlı Kromatin Yeniden Modellenmesi

Kromatin yeniden modellenmesi sadece histon modifikasyonları ile değil ayrıca atp bağımlı kromatin remodelling kompleksleri sayesinde olur.

Kromatin değiştirici kompleks DNA ve histon arasındaki etkileşimi değiştirmek için ATP hidroliziyle ürettiği enerjiyi kullanmaktadır. Böylece transkripsiyon faktörlerinin DNA düzenleyici elemanlarına bağlanmasına izin verilmiş olur.

Nükleer DNA'nın yüzde 80'nin nükleozomlar tarafından paketlenmiş halde olduğu göz önüne alınırsa kromozom yeniden modellenmesinin önemi daha açık olarak anlaşılabilir. Kromatin transkripsiyon, rekombinasyon, çoğalma ve onarım mekanizmaları gibi DNA ile ilgili süreçlerde dinamik bir yapıda olmalıdır. Kromatin yeniden modelleme gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve hatalı düzenlemeler bazı hastalıklara ve tümör gelişimine neden olabilir. (96)

DNA nükleozom içindeki histonlarla hidrojen ve tuz bağları oluşturarak etkileşim içinde bulunur. ATP-bağımlı kromatin yeniden

modellenme kompleksleri bu etkileşimleri düzenler ya da bozarlar. Bu kompleksler nükleozomların yapısını ve şeklini değiştirmek için enerjiyi ATP hidrolizinden sağlarlar. (96)

Kromatin yeniden düzenleme faktörleri nükleozomların yapısını ve düzenlenimini histonları uzaklaştırmadan veya kovalent olarak modifiye etmeden değiştiren protein kompleksleridir. Kromatin yeniden düzenleme faktörlerinin etki mekanizmalarından biri, histon oktomerlerinin DNA molekülü üzerinde kaymasını katalizleyerek, nükleozomlarının yerleşimini değiştirmek ve böylece transkripsiyon faktörlerinin DNA'nın spesifik dizilerine ulaşabilmesini sağlamaktır. Diğer taraftan bu faktörler nükleozom konformasyonunun değişimine neden olarak da spesifik DNA dizilerinin transkripsiyonu düzenleyen proteinlerle etkileşmesini sağlayabilirler. Bunlar histon modifiye eden enzimlere benzer şekilde transkripsiyon aktivator ve represörleriyle birlikte DNA ya bağlanıp nükleozom düzenini değiştirerek transkripsiyonu uyarabilir ya da engelleyebilir. (97-99) Tüm kromatin yeniden modellenme kompleksleri ATP enerjisini kullanabilmek için ATP' az subünitleri içerir. Bu ATP az subünitelerin hepsi aralarında protein yapıda farklılıklar olan SNF2 (sükröz non fermante süper ailesi) nin üyesidir. (100) Bu süperaile aralarında farklılıklara bağlı olarak 4 ana gruba ayrılırlar.

1- SWI/SNF (Switching/sucrose nonfermenting)

2- ISWI(imitation switching),

3- NuRD/Mi-2/CHD (nucleosome remodelling histone deacetylase/chromo-helicase ATPase DNA binding)

4- INO80(inositol requiring 80)

SWI/SNF (Switching/sucrose nonfermenting)

SWI/SNF (Switching/sucrose nonfermenting) kompleksi nükleozomların pozisyonlarını değiştirerek transkripsiyon faktörlerinin DNA ya

bağlanmasına izin verirler. (101) Transkripsiyonda transkripsiyon faktörlerini aktive ederek yada süprese ederek rol oynarlar. (102)

SWI/SNF kompleksleri ayrıca histon oktemerlerini kromatinin başka bir bölümüne aktarabilirler. (103)

SWI/SNF kompleksi tümör süpresör ve onkogenlerle direk etkileşim içinde olduğundan tümör gelişimi ile ilgilidir. Bütün SWI/SNF kompleksleri sükroz non-fermante 5/integraz interaktör 1(SNF5/INI1)kor subüniti içerirler. Bu genin kodladığı SNF5/INI1 tümör süpresör gendir ve çoğu malign rhabdoid tümörlerde non fonksiyonel olarak bulunur. (102) SNF5/INI1ayrıca hücre siklusu regulasyonu ve kromozomal sayısı ve stabilitesi gibi kontrol noktalarıyla ilişkilidir. SWI/SNF ATP'az ailesi, BRM (homologue of Drosophilaprotein 'brahma') ve BRG1 (BRM/SWI2-related gene 1), asetillnemiş histon kuyruklarına bağlanan C-terminal bromodomain içerirler (104)

Geniş kanser yelpazesinde inaktive ya da mutasyona uğayan birçok SWI/SNF subüniti tanımlanmıştır. Bunlar ARID1A (BAF240A), SMARCA4 (BRG1), ARID1B (BAF250B), ARID2 (BAF200), PBRM1 (BA F180), ve diğer SWI/SNF subunit genleridir. Toplamda, SWI/SNF altbirim genleri tüm insan kanserlerinin yaklaşık % 20 sinde mutasyona uğramış haldedir ve TP53 (% 27) ile kıyaslanabilir düzeyde yüksektir. (105)

ISWI Kromatin Değiştirici Kompleks Ailesi

ISWI kompleksi esas olarak süpresyonu desteklemek için nükleozomların organizasyonunu düzenler veya değiştiriler ama ayrıca transkripsiyonun aktivasyonunda da bulunurlar. Nükleozom yapısını bozmaksızın DNA boyunca oktemerleri kaydırarak fonksiyonlarını yerine getirir. (68)

*Nucleosome remodelling histone deacetylase/chromo-helicase ATPase
DNA binding Complexes (NuRD/Mi-2/CHD)*

NuRD/Mi-2/CHD kompleksi rRNA'nın çekirdekte transkripsiyonel aktivasyonunda etkiye sahiptir ve baskılamayı etkileyici mediatör gibi davranırlar. (68) Bu kompleks ayrıca kromozom kaydırılmasını indüklerler. (106)

NuRD/Mi/CHD kompleksi özellikle metillenmiş histon kuyruklarını tanıyan domain içerirler. Bu kompleksler ayrıca bazı kanser tipleri ile ilişkili olan MTA1 (metastaz tümör antijen) ve MTA3 barındırırlar. (68)

Inositol Requiring Complexes (INO80)

INO80 kompleksi spesifik genlerin baskılanması ve aktivasyonunda aracılık ederler ve hücre döngüsü kontrol noktası adaptasyonuna katılırlar. (106)

INO80 kompleksinin ayrıca DNA tamir sisteminde de rol oynadığı gösterilmiştir (68)

Kromatin yeniden modellenme sistemindeki genlerin çoğu kromatin yeniden düzenlenmesine bağlı ATP hidrolizinden sorumlu kromodomain içerir. Kromodomain proteinleri (CDYL, CDYL2, CHD1, CHD2, CHD3, CHD4, CHD5, CHD6, CHD7, CHD8, CHD9) ya aktiftir ya da onları iyileştiren protein ve onların ek domainlerine bağlı olarak transkripsiyonu baskılar. Kromobox domain proteinleri (CBX1, CBX3, CBX4, CBX5, CBX6, CBX7, CBX8) metile histon lizin resüdürlarını tanır ve transkripsiyonel baskılanmaya aracılık eder. Bromodomainler (BAZ1A, BAZ1B, BAZ2A, BAZ2B, BPTF, BRD1, BRD2, BRD3, BRD4, BRD7, BRD8, BRDT, BRPF1, BRPF3, BRWD1, WDR11, BRWD3, ZMYND8) sırasıyla asetillenmiş ve metillenmiş histon lizin resüdürlarına bağlanır ve ortaklaşa çalışır gibi görünür. Bu sistemdeki diğer genler metile CpG DNA ya direkt olarak bağlanırken, ING familyası (ING1, ING2, ING3, ING4, ING5, RING1). metiltransferazlara bağlıdır (98,107,108)

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Eylül 2014 ve Kasım 2015 tarihleri arasında Manisa Celal Bayar Üniversitesi Gastroenteroloji Bilim Dalı ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya Celal Bayar Üniversitesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'na başvuran hastalar dahil edilmiştir. Bu çalışma ile ilgili etik kurul, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığının 16.04.2014 tarih ve 160 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiştir.

3.1 Çalışma Dizaynı ve Hastalar

Eylül 2014 ve Eylül 2015 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'na müracaat eden toplam 95 hasta çalışmaya dahil edildi. Olgular mide kanseri, atrofik gastrit ve kontrol olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Endoskopi yapılan ve biyopsi alınan 34 Mide kanser'li olgu, 36 atrofik gastrit'li olgu ve dispepsi yakınması olan fakat endoskopik ve patolojik olarak normal gelen 25 olgu kontrol grubu olmak üzere, aşağıda bahsedilen çalışmaya dahil edilme ve dışlanma kriterlerine göre çalışmaya dahil edildi.

3.1.1 Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:

1. Mide kanseri tanısı olan, kemoterapi ya da radyoterapi tedavisi almamış yeni tanılı 18 yaş üzeri erişkin hastalar,
2. Atrofik gastrit tanısı olan ve displazi açısından kontrol endoskopisi yapılan ve son 10 gündür Proton Pompası İnhibitörü (PPI) ve antibiotik kullanmayan 18 yaş üzerindeki erişkin hastalar,
3. Dispepsi yakınması olan endoskopide normal görünümde ve patoloji sonucu normal olan 18 yaş üzeri erişkin sağlıklı gönüllüler dahil edildi.

3.1.2 Araştırmadan Dışlama Kriterleri:

- 1- Mide kanseri tanısı ya da başka bir malignite nedeni ile herhangi bir zamanda kemoterapi ya da radyoterapi almak,
- 2- Mide adenokanser dışında başka bir mide ve veya organ malignite tanısı almış olmak,
- 3- Endoskopi sırasında biyopsiyi kabul etmeyen olgular,
- 4- Herhangi bir nedenle subtotal ya da total gastrektomi yapılan olgular,

Endoskopiden 10 gün önce PPI ve veya antibiotik kullanım öyküsü olanlar çalışma dışı bırakılmıştır.

Tüm olguların yaş, cinsiyet, özgeçmiş/soygeçmiş hastalıkları sorgulanarak kaydedildi.

Atrofik gastrit hastalarında endoskopide, rutin değerlendirme ve tetkiklerinde saptanan; hastalığın yaygınlığı, süresi veri olarak kaydedildi. Atrofik gastrit hasta grubunda geçmişte mide malignite araştırılması amaçlı yapılan endoskopik taramalarındaki tüm patoloji değerlendirme bulguları retrospektif olarak araştırıldı ve kaydedildi. Yine çalışmaya dahil edildiğinde yapılan endoskopi taramasında alınan patoloji değerlendirmesi için alınan biyopsi materyalinde malignite kontrolü yapıldı ve veriler kaydedildi.

3.2 Endoskopi ve Doku Örneklemesi İşlemi

Tüm hastaların tetkikleri Celal Bayar Üniversitesi Gastroenteroloji Bölümünde çalışmayıda gerçekleştiren beş Gastroenterolog tarafından (EK, HY, EE, EG, AB) tarafından yapıldı. Endoskopi işlemi Olympus Luxera CFQ260AL marka cihaz ile gerçekleştirildi. Mide kanseri hasta grubunda tümör dokusundan, atrofik gastritli hasta grubunda aktif inflamasyonun izlendiği mide mukozasından ve kontrol grubunda rutin tarama amaçlı mide mukozalarından patolojik değerlendirme ve aynı alandan bu çalışma için amaçlı mukozal biyopsi örneği olympus biyopsi forsepsi kullanılarak biyopsi

örnekleri alındı. Tüm biyopsi örneklerinin patoloji değerlendirmeleri Celal Bayar Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı ve sonuçlarındaki verileri kaydedildi.

qReal-Time PCR array ve Real-Time PCR analizi için alınan mukozal biyopsi örnekleri hemen kuru buz (kuru buz bloğu-78,5 °C yüzey sıcaklığına sahip) ile donduruldu ve -80 ° C'de RNA ekstraksiyonuna kadar saklandı.

3.3 Moleküler Yöntem

Tüm 95 olgunun mide mukozal biyopsi materyallerinden RNA izolasyonu yapıldı. Olgulardan elde edilen RNA'dan cDNA sentez kiti kullanılarak 95 olguya ait cDNA'lar elde edildi. İlk aşamada rastgele seçilen 3 İntestinal metaplazi, 3 mide kanser tanılı olan ve 3 kontrol olgusuna ait cDNA'lar qRT-PCR-array platelerine yerleştirilerek 84 kromatin yeniden modellenme genleri (araştırılacak 84 gen aşağıda tablo 5'te belirtilmiştir) çalışıldı. İlk aşamada rastgele seçilen bu 9 olguda 84 adet Epigenetik Kromatin Yeniden Modellenme Faktör genlerinin ekspresyonları değerlendirildi. Bahsedilen 9 olguda değerlendirilen 84 gen içinde özellikle up ve down eksprese olan ve literatür taraması yapılarak mide kanser dokusunda overeksprese olan 8 gen belirlendi. Bu değerlendirme sonucunda EED, ARID1A, ING5, CTBP1, CBX3, CBX7, MTA1, NSD1 Epigenetik Kromatin Yeniden Modellenme Faktör genleri ve ve housekeeping gen olarak HPRT1 geni, geriye kalan 33 Atrofik Gastrit' li, 33 Mide kanser' li ve 33 kontrol olgu olmak üzere toplam 51 bireyde çalışıldı. Bu aşamaların hepsi Celal Bayar Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Araştırılacak Human Epigenetik Kromatin Yeniden Modellenme Faktör Genleri
Epigenetik Kromatin Yeniden Modellenme Faktörleri RT-PCR array plate içeriği: Araştırılacak 84 gen, 5 housekeeping gen, 1 genomik DNA kontrol, 3 reverse transkriptaz kontrol 3 pozitif PCR kontrol.
SWI/SNF Complex Components: ARID1A, INO80 (INOC1), PBRM1, SMARCA2, SMARCA4.
Polycomb Group Genleri: ASXL1, BMI1 (PCGF4), CTBP1, CTBP2, EED, EZH2, PCGF1, PCGF2, PCGF3, PCGF5, PCGF6, PHC1, PHC2, RING1, RNF2, SUZ12, TRIM27.
Chromobox / Heterochromatin Protein 1 (HP1) Homologs: CBX1, CBX3, CBX4, CBX5, CBX6, CBX7, CBX8.
Bromodomain Proteinleri: BAZ1A, BAZ1B, BAZ2A, BAZ2B, BPTF, BRD1, BRD2, BRD3, BRD4, BRD7, BRD8, BRDT, BRPF1, BRPF3, BRWD1, WDR11, BRWD3, ZMYND8.
Chromodomain / Helicase / DNA-Binding Domain (CHD) Proteinleri: CDYL, CDYL2, CHD1, CHD2, CHD3, CHD4, CHD5, CHD6, CHD7, CHD8, CHD9.
Nucleosome-Remodeling and Histone Deacetylase (NuRD) Complex Components: CHD3, MBD3, MTA1, MTA2, NAB2, SPEN.
Plant Homeodomain (PHD) Proteinleri: NSD1, PHF1, PHF2, PHF3, PHF5A, PHF6, PHF7, PHF13, PHF21A, PHF21B.
Inhibitor of Growth (ING) Family Üyeleri: ING1, ING2, ING3, ING4, ING5, RING1
Methyl-CpG DNA Binding Domain (MDB) Proteinleri: MBD1, MBD2, MBD3, MBD4, MECP2, HINFP
CCCTC-Binding Factor (Zinc Finger Protein): CTCF

Tablo 5: Araştırılacak Kromatin yeniden modellenme genleri

3.3.1 Hazırlanan Solüsyonlar

RTL Solüsyonu: 1ml RTL solüsyonuna 10 µl β merkapttoetanol eklenerek hazırlandı.

Buffer RPE: RNA izolasyon kitinin konsatre olarak sağladığı RPE solüsyonuna 4 volüm etanol eklenerek hazırlandı.

%70`lik Etanol: 70 ml Etanol distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

DNase I Solüsyonu: Liyofilize DNase I' i 550 µl RNase-free suda çözüldü. Şişeyi alt üst ederek yavaşça karıştırıldı. Vortekslenmedi.

DNase I İnkübasyon Miksi: 70 µl Buffer RDD 'ye 10 µl DNase I stok solüsyonundan eklendi. Yavaşça tübü alt üst edilerek karıştırıldı. Tübün yanlarında kalan sıvıları toplamak için kısa bir santrifüj edildi.

3.3.2 Dokulardan RNA İzolasyonu

Dokudan RNA izolasyonu ticari olarak sağlanan RNeasy Mini Kit (Qiagen) kullanılarak yapıldı.

1. Doku örnekleri depolandıkları -80 derin dondurucudan çıkarıldı. Dokunun büyüklüğü tartılarak tanımlandı. 30 mg dan daha fazla doku kullanılmadı.
2. Her bir hasta dokusu ependorf tüpün içine alındı. Tüpün içine 20-30 mg doku için 600 µl Buffer RLT ve mekanik parçalamayı sağlayıcı 7mm çapında metal bilyeler eklendi.
3. Ependorf tüpler TissueLyser homojenizatörüne yüklendi. 25.000 hertz' de 5 dakika homojenizatörde homojenize edildi.
4. Oluşan lizat 3 dk full hızda santrifüj edildi. Dikkatlice süpernatant kısmı uzaklaştırıldı ve onu yeni bir ependorf tüpüne transfer edildi.
5. Temizlenmiş lizata 1 hacim %70` lik etanol eklenerek, pipetle hemen karıştırıldı. Santrifüj yapılmadı.

6. 2 ml'lik toplama tüpü içerisine yerleştirilmiş bir RNeasy spin kolonuna 700 µl örnek transfer edildi. Kapak nazikçe kapatılarak ≥ 8000 g (≥ 10000 rpm) de 15 saniye santrifüj edildi. Altta toplanan sıvı atıldı. Sonraki adım için yeni bir toplama tüpü yerleştirildi.
7. Eğer örnek hacmi 700 µl yi aşarsa aynı RNeasy spin kolonunda birbirini izleyen aliquatları santrifüj edildi. Her santrifüjden sonra altta toplanan sıvı atıldı.
8. DNA kontaminasyonunu ortadan kaldırmak için bu adımdan sonra kolonda DNA kesimi yapıldı.
9. RNeasy spin kolonuna 350 µl Buffer RW1 eklendi. Kapağı nazikçe kapatılarak kolon zarını yıkamak için ≥ 8000 g (≥ 10000 rpm) de 15 saniye santrifüj edildi. Altta toplanan sıvıyı atılarak yerine yeni toplama tüpü yerleştirildi.
10. DNase I inkübasyon mikisini (80 µl) direkt olarak RNeasy spin kolon zarına eklenerek 15 dakika (20-30°C) inkübe edildi.
11. 350 µL Buffer RW1 'i RNeasy spin kolona eklendi. Kapağı nazikçe kapatıldı. Kolon zarını yıkamak için ≥ 8000 g (≥ 10000 rpm) de 15 saniye santrifüj edildi. Altta toplanan sıvı atıldı. Toplama tüpü yeniden yerleştirildi.
12. 350 µL Buffer RW1 'i RNeasy spin kolona eklendi. Kapak nazikçe kapatılarak kolon zarını yıkamak için ≥ 8000 g (≥ 10000 rpm) de 15 saniye santrifüj edildi. Altta toplanan sıvı atıldı. Toplama tüpü yeniden yerleştirildi.
13. 500 µL Buffer RPE 'i RNeasy spin kolona eklendi. Kapak nazikçe kapatılarak kolon zarını yıkamak için ≥ 8000 g (≥ 10000 rpm) de 15 saniye santrifüj edildi. Altta toplanan sıvı atıldı. Toplama tüpü yeniden yerleştirildi.
14. 500 µL Buffer RPE 'i RNeasy spin kolona eklendi. Kapak nazikçe kapatılarak kolon zarını yıkamak için ≥ 8000 g (≥ 10000 rpm) de 2 dakika santrifüj edildi. Altta toplanan sıvı atıldı. Toplama tüpü yeniden yerleştirildi.

15. Yeni bir 2 ml toplama tüpünü RNeasy spin kolonyerleştirildi ve altta kала sıvıyı içeren eski toplama tüpü atıldı. Kapağı nazikçe kapatıldı ve full hızda 1 dk santrifüj edildi.
16. RNeasy spin kolonu yeni bir 1,5 ml 'lik toplama tüpüne yerleştirildi. 30-50 µl RNase free suyu direkt olarak spin kolon zarına eklendi. Kapağı nazikçe kapatılarak RNA 'yı dilue etmek için ≥ 8000 g (≥ 10000 rpm) de 1 dakika santrifüj edildi.

3.3.3 cDNA Sentezi

1. cDNA sentez için RT First Strand Kit(C-03) kiti kullanıldı. Bir PCR tüpüne 8 µl RNA örneği, 2 µl GE (5XgDNA Elimination buffer) konularak PCR cihazına yüklendi.
2. 42 °C da 5 dk. inkübe edildi.
3. Başka bir PCR tüpünde 4 µl BC3(5XRT Buffer 3), 1 µl P2(Primer X External Control mix), 2 µl RE3(RT Enzyme Mix 3), 3 µl H₂O den oluşan PCR kokteyli hazırlandı.
4. PCR kokteyli ısı döngü cihazından çıkan PCR tüpüne eklendi ve PCR tüpü tekrar cihaza yüklendi.
5. 42 °C da 15 dak, 95 °C da 5 dakika inkübe edildi. Elde edilen cDNA örnekleri dilue edildi.

3.3.4 qRT-PCR Array Yükleme

1. qRT- PCR array yükleme için toplam hacim 2300 µl olacak şekilde ; 102 µl dilue cDNA , 1150 µl 2X RT² SYBR Green ROX FAST Master mixi , 1048 µl H₂O den oluşan array kokteyli hazırlandı.
2. Array kokteyli her bir kuyucuğa 20 µl olacak şekilde 96 kuyucuklu Human Epigenetic Chromatin Remodeling Factors RT² Profiler™ PCR Arrayine yüklendi.
3. Arraylar *Rotor-Gene* RG-3000 (Corbett Research, Qiagen) cihazına konuldu. Aktivasyon için 95 °C 10 dak, 40 döngü olacak şekilde 95 °C 15 sn ve 60°C 30 sn da inkübe edildi.

4. <http://www.sabiosciences.com/pcrarraydataanalysis.php> web sitesindeki yazılım kullanılarak array data analizleri yapıldı.
5. Array data analizleri sonucu over ve undereksprese olan genlerden 8 gen Real-Time PCR çalışması için seçildi.

3.3.5 Real-Time PCR

1. Array data analizleri sonucu over ve undereksprese olan genlerden 8 gen için(EED, ARID1A, ING5, CTBP1, CBX3, CBX7, MTA1, NSD1 genleri + housekeeping gen HPRT1 geni) c-DNA örnekleri Real-Time PCR çalışmasına alındı.
2. 8 gene ait primer ve SYBR Green Master Mix ticari olarak karşılandı.
3. Bunun için her bir örnek başına SYBR green Master Mix'den 12,5 µl, Primer (10 pmol)'den 1 µl alındı ve 2,2 µl cDNA eklenerek reaksiyon karışımı hazırlandı. Bu karışıma toplam volüm 25 µl'ye tamamlanacak şekilde dH₂O eklendi. Tüm karışım hazırlama işlemleri buz üzerinde gerçekleştirildi. Her bir örnek için hazırlanan bu PCR karışımları amplifikasyon için *Rotor-Gene* RG-3000 (Corbett Research, Qiagen) cihazının platine yüklenerek amplifikasyon programı başlatıldı. Amplifikasyon programı 95°C'de 5 dakika, 94°C'de 1 dakika, 61°C'de 40 saniye, 72°C'de 1 dakika ve son üç sikusun 40 kere tekrarlanması ve son uzama 2°C'de 2 dakika olarak uygulandı. PCR şartları çalışmaya göre optimize edildi. Reaksiyonda HPRT1 geni endojen kontrol ve RNase free su negatif kontrol olarak kullanıldı.
4. Real-Time PCR reaksiyonu sonunda elde edilen CT değerleri REST 2009 (Relative Expression Software Tool V. 2.0.13) programında standart mod'da referans gen (HPRT1) normalizasyonu ile değerlendirildi ve sonuçlar bir excel dosyasında toplandı.
5. Tüm çalışılan genlerdeki CT değerlerinin data analizleri on-line <http://www.sabiosciences.com/pcrarraydataanalysis.php> web sitesindeki yazılım kullanılarak yapıldı.

3.4 Veri Analizi ve İstatistik

Atrofik gastrit, mide kanser ve kontrol gruplarının gen ekspresyonları karşılaştırıldı. Mide kanseri hastalarında metastaz durumu, mide tutulum yaygınlığı, mide kanseri hastalarının sürvi alt gruplara ayrılarak gen ekspresyon analizi yapıldı. Atrofik gastrit hastalarında Hp pozitiflik durumuna göre alt gruplara ayrılarak ekspresyon analizi yapıldı.

Epigenetik Kromatin Yeniden Modellenme Faktör genlerinin veri analizi RT2 Profiler PCR array data analizi ile <http://www.sabiosciences.com/pcrarraydataanalysis.php> sitesinde online ve ücretsiz olarak yapıldı. Bu analizde her bir PCR verisi için Excell formatında tablo oluşturuldu. Bu veriler bahsedilen online sisteme yüklendi. Bu veriler işığında her PCR reaksiyonu için ortalama Ct değerleri ve T test ile bir P değeri hesaplandı. Ct>33 olanlar hesaplamaya dahil edildi. Fold-change and fold-regulation değerleri 2 ve üzeri olan genler up regüle genler, Fold- change değeri 0.5'in altında ve Fold-regulation değeri -2'nin altında olan genler down regüle genler olarak değerlendirildi. P değeri otomatik olarak Student T Test kullanılarak hesaplanıp $p<0.05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

4.1 Hasta Grupları

Endoskopi bulguları ve biyopsi sonucu patolojik olarak mide adenokanser teşhisi konmuş 34 hasta, yine endoskopi bulguları ve patoloji sonucu atrofik gastrit tanısı almış 36 hasta ve herhangi bir kanser öyküsü olmayan endoskopi ve mide biyopsi patolojik değerlendirme sonucu normal saptanan 25 birey kontrol grubu olmak üzere toplam 95 kişi çalışmaya alındı.

Çalışma grubundaki hastaların yaş ortalaması $55,71 \pm 10,17$ olarak saptandı. Mide kanseri hasta grubunun yaş ortalaması $58,85 \pm 7,52$, atrofik gastrit hasta grubunun yaş ortalaması $53,33 \pm 13,09$ ve kontrol grubunun yaş ortalaması $54,84 \pm 7,36$ olarak saptandı. Bu üç grup yaş olarak birbirleri ile karşılaştırıldığı zaman ise anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0.66$). (Tablo 6)

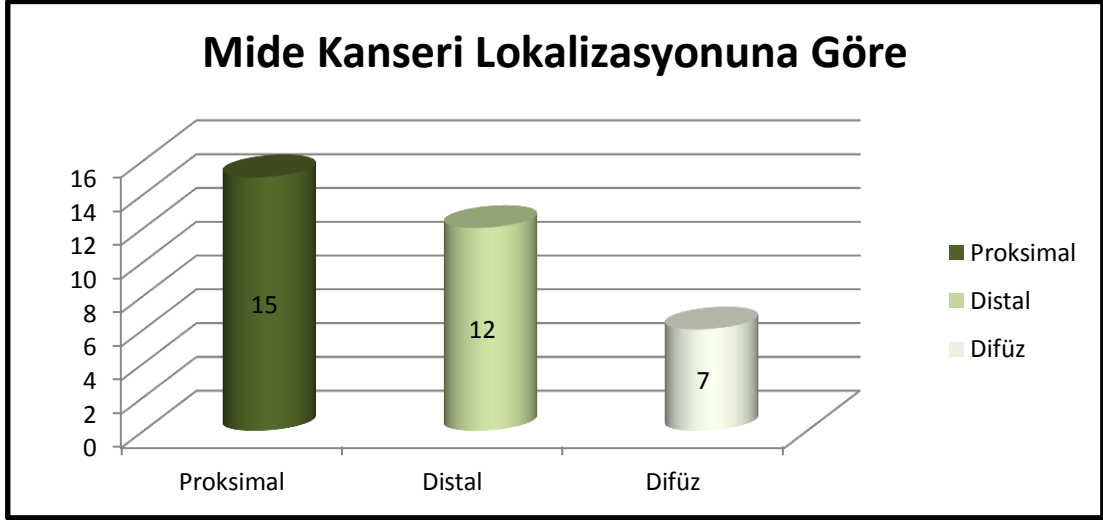
Çalışma grubundaki toplam 95 olgu içinde erkek cinsiyet oranı % 64.2 ($n=61$) olarak saptandı. Mide kanser, atrofik gastrit ve kontrol grupları cinsiyet açısından birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.60$) (Tablo 6).

		Mide Kanseri (n=34)	Atrofik Gastrit (n=45)	Kontrol (n=25)	P
Yaş		$58,85 \pm 7.5$	$55,71 \pm 10,17$	$54,84 \pm 7.4$	0.66
Cinsiyet	Erkek	% 68 (n=23)	% 67 (n=24)	% 56 (n=14)	
	Kadın	% 32 (n=11)	% 33 (n=12)	% 44 (n=11)	

Tablo 6: Hasta Grupları ve Genel Parametreler

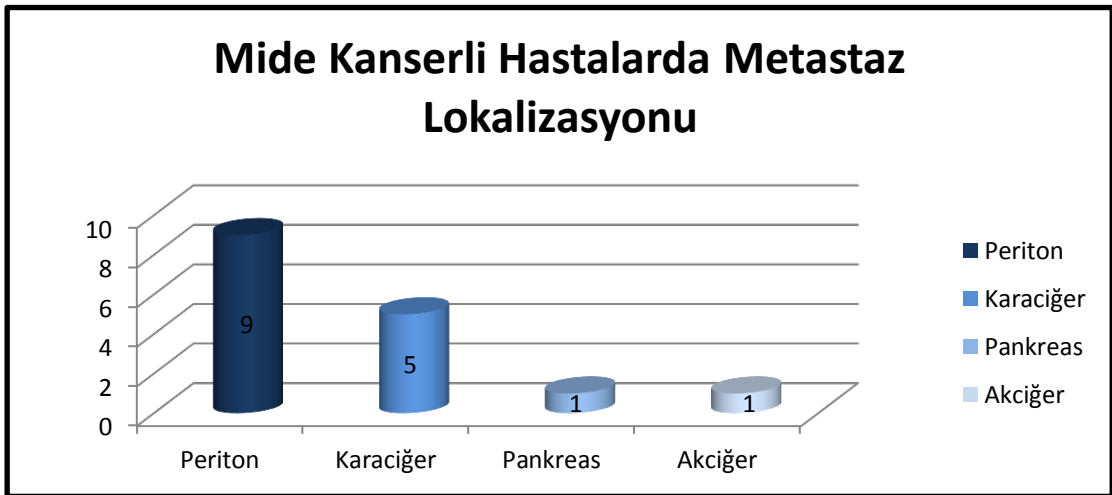
4.1.1 Mide Kanseri Hastalar ve Alt Grupları

Mide kanserlerin lokalizasyonu proximal, distal ve diffüz yerleşim olarak sınıflandırıldı. Lokalizasyonuna göre mide kanser hasta oranları proximal: %44 (n=15), distal: % 35(n=12), diffüz:% 21(n=7) saptandı. (Grafik 1)



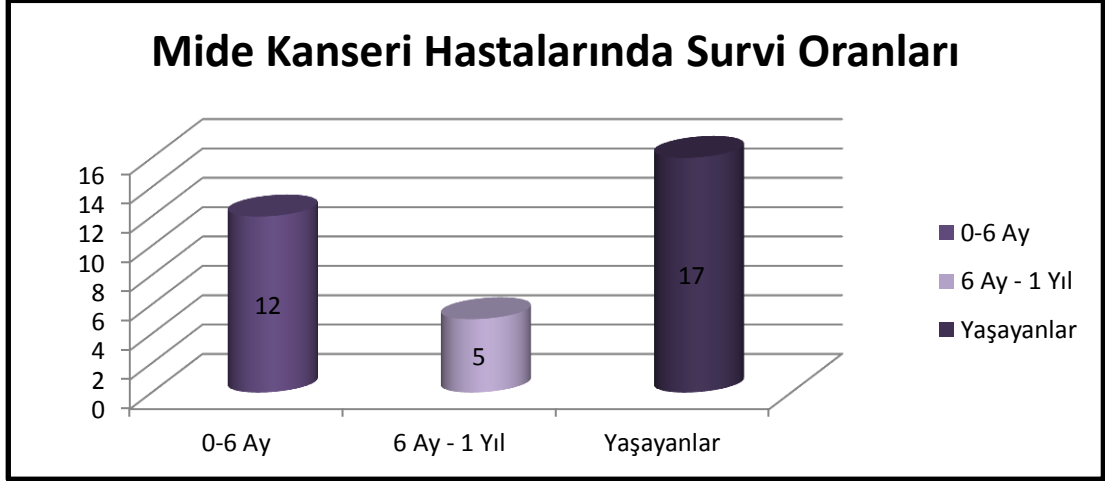
Grafik 1: Mide Kanseri Lokalizasyonuna Göre

Mide kanserli hastaların %47'sinin (n=16) metastaz yaptığı saptandı. Hastaların % 26'sının (n=9) periton, % 15'inin (n=5) karaciğer, %3'ünün (n=1) pankreas, % 3'ünün (n=1) akciğer metastazı saptandı (Grafik 2)



Grafik 2:Mide Kanserli Hastalarda Metastaz Lokalizasyonu

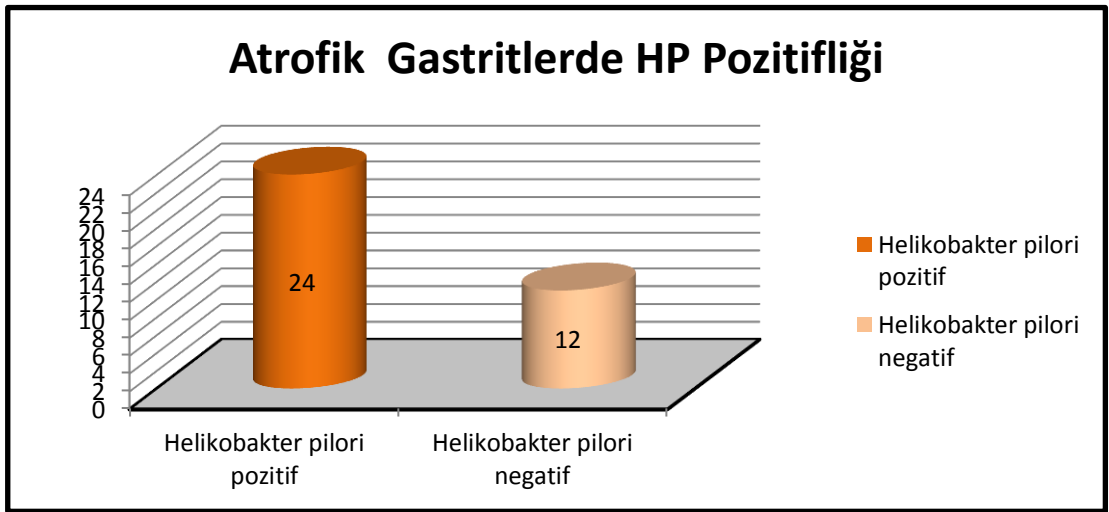
Mide kanserli hastaların % 50' sinin (n=17) ex olduğu , %50 ' sinin (n=17) çalışma sonlandığında hala yaşadığı saptandı. Ex olan hastaların % 35'inin (n=12) 0-6 ay , % 14'sinin (n=5) 6 ay-1 yıl sonra ex olduğu saptandı. (Grafik 3).



Grafik3: Mide Kanseri Hastalarında Survi Oranları

4.1.2 Atrofik Gastritli Hastalar ve Alt Gruplar

Atrofik gastritli hastaların patoloji sonuçlarına göre % 67'sinin (n=24) helikobakter pilori pozitif, % 33'ünün (n=12) helikobakter pilori negatif olduğu saptandı. (Grafik 4).



Grafik 4:Atrofik Gastritlerde Hp Pozitifliği

4.2 Kromatin Yeniden Modellenme Gen Ekspresyon Analizi

İlk aşamada rastgele seçilen 9 (3 Mide kanseri, 3 Atrofik Gastrit, 3 Kontrol) olguda 84 adet histon modifikasyon geninin ekspresyonları değerlendirildi. Bahsedilen 9 olguda değerlendirilen 84 gen içinde özellikle eksprese olan ve literatür taraması yapılarak mide kanseri dokusunda ekspresyon seviyesinin değişmesi beklenen 8 gen belirlendi. Bu değerlendirme sonucunda EED, NSD1, ING5, CtBP1, MTA1, CXB3, CXB7, ARID1A kromatin yeniden modellenme ve housekeeping gen olarak HPRT1 geni, geriye kalan 31 mide kanserli, 33 atrofik gastritli ve 22 kontrol olgu olmak üzere toplam 86 bireyde çalışıldı. Mide kanseri (n=34), atrofik gastrit (n=36) ve kontrol grubu (n=25) olmak üzere toplam 95 hastada belirlenen bu 8 genin ve 1 kontrol geninin analizleri yapıldı.

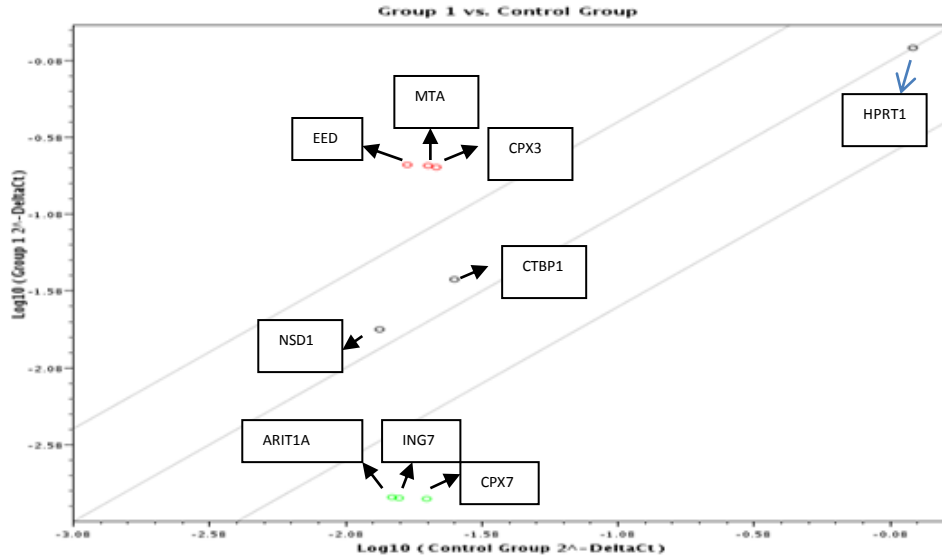
Mide Kanseri Analizleri;

Mide kanser hastalarında (n=34); EED, NSD1, CtBP1, MTA1, CXB3 genlerinin overeksprese olduğu izlenmiştir. (Şekil 4) Mide kanser hastalarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla overeksprese olduğu saptandı. Mide kanser hastalarında (n=34); ING5, CXB7, ARID1A genlerinin down-eksprese olduğu izlenmiştir. (Şekil 3) Mide kanser hastalarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ING5, CXB7, ARID1A genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı. HPRT1 (Housekeeping gen) geninin ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi. (Tablo 7)

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	12,5222	(5.50, 19.54)	0,000002
ING5	0,0908	(0.05, 0.13)	0,000005
MTA1	10,4114	(5.05, 15.77)	0,000007
CTBP1	1,4982	(0.58, 2.42)	0,743963
NSD1	1,3354	(0.64, 2.03)	0,684861
CBX3	9,4826	(3.95, 15.01)	0,000006
CBX7	0,071	(0.03, 0.11)	0,003226
ARID1A	0,097	(0.05, 0.15)	0,003279
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0

Not: Mide kanseri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 7: Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi



Şekil 4: Mide kanseri ve kontrol gruplarının gen ekspresyonu karşılaştırılması. Kontrol grubu ve mide kanserinde her bir genin hibridizasyon yoğunluğu, log 10 tabanlı dağınık plato şeklinde görülmektedir. X-ekseni kontrol kontrol grubunu, Y-ekseni mide kanseri grubunu temsil etmektedir. Genler oklarla belirtilmiştir.

Atrofik Gastrit Analizleri:

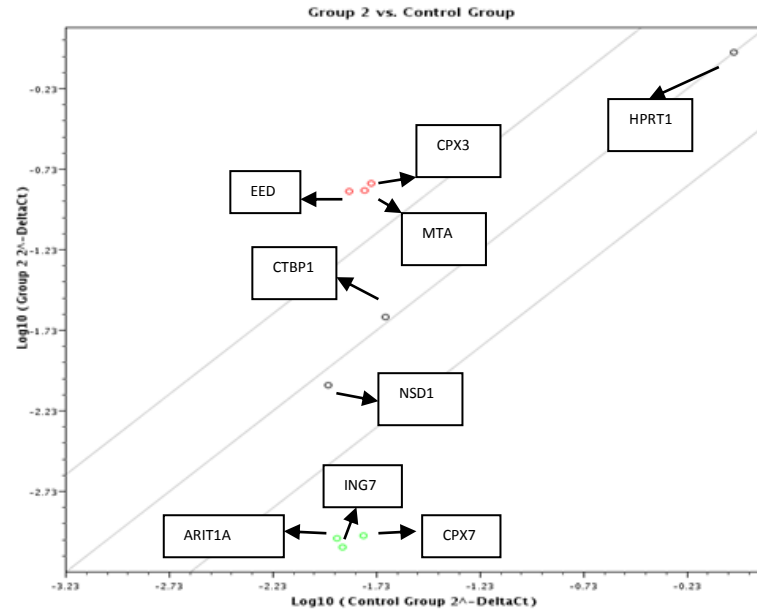
Atrofik gastritli hastalarında (n=36); EED, CtBP1, MTA1, CXB3 genlerinin overeksprese olduğu izlenmiştir (Şekil 5). Atrofik gastritli hastalarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla overeksprese olduğu saptandı.

Atrofik gastrit hastalarında (n=36); ING5, CXB7, ARID1A, CBX3 genlerinin down-eksprese olduğu izlenmiştir (Şekil5). Atrofik gastritli hastalarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ING5, CXB7, ARID1A genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı. HPRT1 (Housekeeping gen) geninin ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi (Tablo 8).

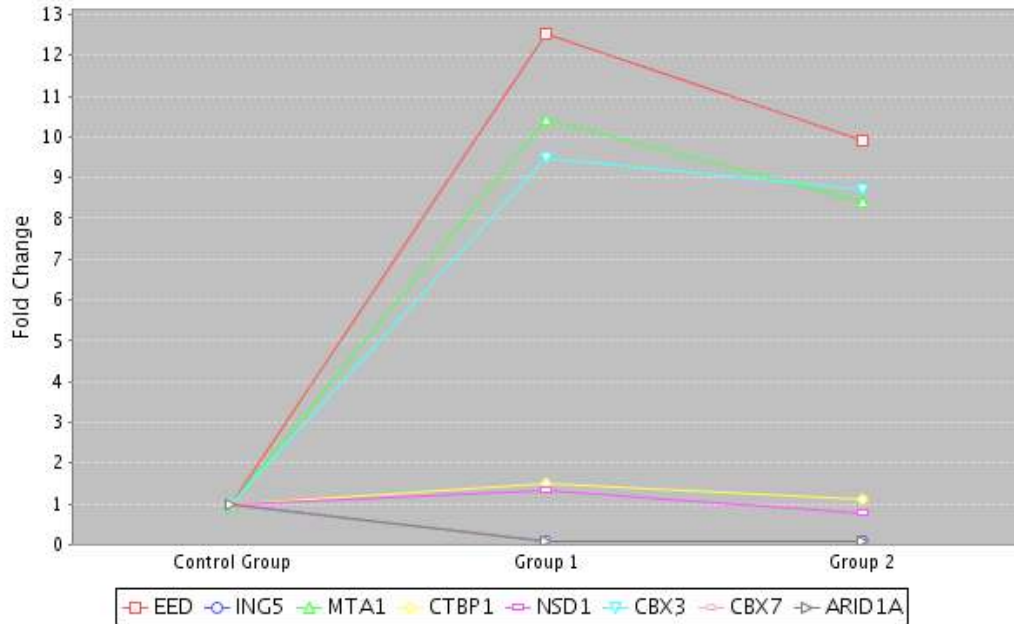
Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	9,8957	(3.99, 15.80)	0,01312
ING5	0,0656	(0.03, 0.10)	0,000005
MTA1	8,4081	(3.46, 13.36)	0,009641
CTBP1	1,0982	(0.40, 1.80)	0,41411
NSD1	0,7813	(0.33, 1.24)	0,46245
CBX3	8,7146	(3.70, 13.73)	0,009204
CBX7	0,0616	(0.03, 0.09)	0,003654
ARID1A	0,0787	(0.04, 0.12)	0,003601
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0

Not: Atrofik Gastrit kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır

Tablo 8: Atrofik Gastrit Gen Ekspresyon Analizi



Şekil 5: Atrofik gastrit ve kontrol gruplarının gen ekspresyonu karşılaştırılması. Kontrol grubu ve atrofik gastrit her bir genin hibridizasyon yoğunluğu, log 10 tabanlı dağınık plato şeklinde görülmektedir. X-ekseni kontrol kontrol grubunu, Y-ekseni atrofik gastrit grubunu temsil etmektedir. Genler oklarla belirtilmiştir.



Şekil 6: Grupların fold change grafisi (grup 1: mide kanseri, grup 2: atrofik gastrit)

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	1,2654	(0.58, 1.95)	0,82088
ING5	1,3858	(0.96, 1.81)	0,453466
MTA1	1,2383	(0.53, 1.94)	0,376929
CTBP1	1,3643	(0.71, 2.02)	0,245189
NSD1	1,7091	(0.96, 2.46)	0,604644
CBX3	1,0881	(0.54, 1.63)	0,742473
CBX7	1,1527	(0.80, 1.51)	0,911585
ARID1A	1,2328	(0.85, 1.61)	0,714353
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0
Not: Mide Kanseri Hastaları Atrofik Gastrit Hastalarıyla karşılaştırılmıştır			

Tablo 9: Mide Kanseri Hastalarının Atrofik Gastrit Hastalarına Göre Gen Ekspresyonlarının Karşılaştırılması

4.2.1 Mide Kanseri Alt Grup Gen Ekspresyon Analizi

4.2.1.1 Metastaz Durumuna Göre Gen Ekspresyon Analizi

Mide kanseri metastazı olanlar ve olmayanlar diye iki gruba ayrıldı. Metastazı olan alt grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun arttığı saptandı. Metastazı olan alt grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ING5, CXB7, ARID1A genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı. (Tablo 10).

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	7,57	(2.42, 12.72)	0,001356
ING5	0,1061	(0.05, 0.16)	0,000656
MTA1	6,0532	(2.28, 9.83)	0,004493
CTBP1	1,7824	(0.52, 3.04)	0,39713
NSD1	1,2821	(0.50, 2.06)	0,945892
CBX3	5,4302	(1.68, 9.18)	0,003697
CBX7	0,082	(0.03, 0.13)	0,029227
ARID1A	0,1138	(0.05, 0.18)	0,030184
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0

Not: Metastazı olan mide kanseri hastalarının kontrol grubuna göre karşılaştırılması

Tablo 10: Metastazı Olan Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi

Metastazı olmayan alt grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun arttığı saptandı. Metastazı olmayan alt grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ING5, CXB7, ARID1A genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı. (Tablo 11).

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	23,4912	(12.31, 34.67)	0
ING5	0,0748	(0.04, 0.11)	0,001566
MTA1	20,5074	(11.83, 29.18)	0
CTBP1	1,2058	(0.42, 1.99)	0,470183
NSD1	1,4052	(0.68, 2.13)	0,513891
CBX3	19,0356	(9.57, 28.50)	0
CBX7	0,0593	(0.03, 0.09)	0,046917
ARID1A	0,0794	(0.04, 0.12)	0,046142
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0
<i>Not: Metastaz olmayan mide kanseri hastalarının kontrol grubuna göre karşılaştırılmıştır</i>			

Tablo 11: Metastazı Olmayan Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi

Metastazı olan mide kanseri hastalarının metastazı olmayan alt grupla karşılaştırıldığında EED,MTA1,CBX3 genlerinin ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı. (Tablo 12).

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	3,1032	(1.38, 4.83)	0,041606
ING5	0,7048	(0.45, 0.96)	0,064131
MTA1	3,3879	(1.60, 5.18)	0,024971
CTBP1	0,6765	(0.26, 1.09)	0,201448
NSD1	1,096	(0.59, 1.61)	0,489872
CBX3	3,5055	(1.57, 5.44)	0,015656
CBX7	0,7232	(0.46, 0.99)	0,076164
ARID1A	0,698	(0.44, 0.96)	0,057277
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0
Not: Metastazı olan alt grubun, olmayan alt gruba <i>karşılaştırılmıştır.</i>			

Tablo 12: Metastazı Olan Alt Grubun ve Olmayan Alt Gruba Göre Gen Ekspresyonların Karşılaştırılması

4.2.1.2 Tutulum Lokalizasyonuna Göre Gen Ekspresyon Analizi

Mide kanseri tutulum lokalizasyonuna göre midenin diffüz tutulumu(% 20, n=7) ve proximal veya distalinde lokalize (diffüz olmayan) (% 79,n=27) alt grup şeklinde iki gruba ayrıldı. Diffüz tutulum olan alt grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun arttığı saptandı. Diffüz tutulum olan alt grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ING5, CXB7, ARID1A, genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı. (Tablo 13).

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	23,771	(8.29, 39.25)	0,000001
ING5	0,0819	(0.02, 0.15)	0,053422
MTA1	17,9329	(4.81, 31.06)	0,000009
CTBP1	1,6119	(0.00001, 3.44)	0,43834
NSD1	0,9662	(0.29, 1.64)	0,483667
CBX3	16,718	(3.93, 29.50)	0,000005
CBX7	0,0649	(0.01, 0.12)	0,22902
ARID1A	0,087	(0.01, 0.16)	0,229989
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0

Not: Mide diffüz tutulum olan mide kanseri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır

Tablo 13: Mide Diffüz Tutulum Olan Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi

Mide kanserinin midenin proximal veya distalinde lokalize (diffüz olmayan) alt grubunun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun arttığı saptandı. Mide kanserinin midenin proximal veya distalinde lokalize (diffüz olmayan) alt grubunun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ING5, CXB7, ARID1A, genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı. (Tablo 14)

Histon Geni	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	11,0155	(4.51, 17.52)	0,000003
ING5	0,0927	(0.05, 0.14)	0,000027
MTA1	9,3386	(4.26, 14.42)	0,000012
CTBP1	1,4765	(0.56, 2.39)	0,916981
NSD1	1,4247	(0.67, 2.18)	0,849996
CBX3	8,4659	(3.28, 13.65)	0,000011
CBX7	0,0723	(0.03, 0.11)	0,007111
ARID1A	0,0991	(0.05, 0.15)	0,007202
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0
Not: Mide diffüz tutulum olmayan(proximal veya distal yerleşimli)mide kanseri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır			

Tablo 14: Mide Diffüz Tutulum Olmayan(Proximal veya Distal Yerleşimli) Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi

Midenin diffüz tutulduğu alt grup ile proximal veya distalinin (diffüz olmayan) tutulum gösterdiği alt grupla karşılaştırıldığında genlerin ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 15).

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	2,158	(0.81, 3.51)	0,129636
ING5	0,8829	(0.26, 1.51)	0,803181
MTA1	1,9203	(0.50, 3.34)	0,199036
CTBP1	1,0918	(0.00001, 2.25)	0,46223
NSD1	0,6781	(0.28, 1.08)	0,380727
CBX3	1,9747	(0.52, 3.43)	0,19351
CBX7	0,8981	(0.26, 1.54)	0,778027
ARID1A	0,8772	(0.25, 1.50)	0,823156
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0
Not: Midenin diffüz tutulduğu alt grup, diffüz tutulum olmayan alt grup ile karşılaştırılmıştır.			

Tablo 15: Midenin Diffüz Tutulduğu Alt Grubun Diffüz Tutulum Olmayan (Distal Veya Proximal Tutulum Olan) Alt Gruba Göre Gen Ekspresyon Karşılaştırılması

4.2.1.3 Sürviye Göre Gen Ekspresyon Analizi

Mide kanseri hastaları ex olanlar ve hala yaşayanlar olarak iki alt gruba ayrıldı. Ex olan mide kanserli alt grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun arttığı saptandı. Ex olan mide kanserli alt grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ING5, CXB7, ARID1A, genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı. (Tablo 16).

Histon Geni	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	16,1586	(7.71, 24.61)	0
ING5	0,0919	(0.04, 0.14)	0,000411
MTA1	12,8915	(6.50, 19.28)	0
CTBP1	1,5746	(0.57, 2.58)	0,835152
NSD1	1,6841	(0.74, 2.63)	0,821023
CBX3	12,1418	(5.46, 18.82)	0
CBX7	0,0729	(0.03, 0.11)	0,024474
ARID1A	0,0976	(0.04, 0.15)	0,024642
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0
Not: Ex olan mide kanseri hastaları kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır			

Tablo 16: Ex Olan Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi

Yaşayan (ex olmayan) mide kanserli alt grup hastalarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun arttığı saptandı. Yaşayan (ex olmayan) mide kanserli alt grup hastalarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ING5, CXB7, ARID1A, genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı.

Histon Geni	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	8,7633	(1.39, 16.14)	0,00035
ING5	0,0893	(0.04, 0.14)	0,002542
MTA1	7,7196	(1.62, 13.82)	0,000474
CTBP1	1,3975	(0.31, 2.49)	0,707332
NSD1	0,965	(0.43, 1.50)	0,27708
CBX3	6,7085	(0.90, 12.51)	0,000583
CBX7	0,0684	(0.03, 0.11)	0,056393
ARID1A	0,0961	(0.04, 0.15)	0,056964
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0
Not: Yaşayan(ex olmayan) mide kanseri hastaları kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır			

Tablo 17: Yaşayan(Ex Olmayan) Mide Kanseri Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi

Mide kanseri yaşıyan alt grup ile mide kanserli ex olan alt grupla karşılaştırıldığında genlerinin ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (Tablo 18).

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	1,8439	(0.41, 3.27)	0,897529
ING5	1,029	(0.61, 1.44)	0,860988
MTA1	1,67	(0.40, 2.94)	0,960255
CTBP1	1,1268	(0.36, 1.90)	0,871743
NSD1	1,7451	(0.96, 2.53)	0,100299
CBX3	1,8099	(0.37, 3.25)	0,997638
CBX7	1,0648	(0.63, 1.50)	0,792567
ARID1A	1,0158	(0.60, 1.43)	0,913859
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0
Not: Ex olan alt grub yaşıyan alt grup ile karşılaştırılmıştır.			

Tablo 18: Ex Olan Hastaların Yaşıyan Hasta Grubuna Göre Gen Ekspresyonların Karşılaştırılması

4.2.2 Atrofik Gastrit Hastaları Alt Grup Gen Ekspresyon Analizi

Atrofik gastrit hastalar (n=36), helikobakter pozitif(% 67, n=24), ve helikobakter negatif(% 33, n=12) olmak iki ayrı alt gruba ayrıldı.

Helikobakter pozitif olan atrofik gastritli hastalar kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun arttığı saptandı. Helikobakter pozitif olan atrofik gastritli hastalar kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında ING5, CXB7, ARID1A genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı. (Tablo 19)

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	25,5871	(7.58, 43.60)	0,00105
ING5	0,0741	(0.02, 0.13)	0,01002
MTA1	35,6479	(10.16, 61.14)	0,00001
CTBP1	0,8644	(0.00001, 1.75)	0,660098
NSD1	0,9468	(0.01, 1.88)	0,587791
CBX3	26,107	(8.79, 43.42)	0,000084
CBX7	0,0587	(0.02, 0.10)	0,104401
ARID1A	0,0787	(0.02, 0.14)	0,105413
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0

Not: Hp pozitif atrofik gastritli hastalar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır

Tablo 19: Hp Pozitif Atrofik Gastritli Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi

Hp negatif olan atrofik gastritli hastalar kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında EED, MTA1, CXB3 genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun arttığı saptandı. Helikobakter negatif olan atrofik gastritli hastalar kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında ING5, CXB7, ARID1A, genlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekspresyonun azaldığı saptandı.(Tablo 20)

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	6,4025	(2.43, 10.38)	0,000043
ING5	0,062	(0.03, 0.09)	0,000124
MTA1	4,3368	(2.06, 6.61)	0,010645
CTBP1	1,2255	(0.45, 2.00)	0,460328
NSD1	0,7155	(0.30, 1.13)	0,083928
CBX3	5,2704	(2.42, 8.12)	0,001429
CBX7	0,0629	(0.03, 0.10)	0,015704
ARID1A	0,0787	(0.04, 0.12)	0,01531
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0
Not: Hp negatif atrofik gastritli hastalar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır			

Tablo 20: Hp Negatif Atrofik Gastritli Hastalarının Gen Ekspresyon Analizi

Helikobakter pozitif atrofik gastritli hasta alt grubu ile helikobakter negatif atrofik gastrit hasta alt grubu karşılaştırıldığında EED,MTA1, CBX3 genlerinin ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı.(Tablo 21)

Gen	Fold Değişikliği	95% CI	P Değeri
EED	3,9964	(1.17, 6.82)	0,009386
ING5	1,1947	(0.49, 1.90)	0,278388
MTA1	8,2199	(2.42, 14.02)	0,000072
CTBP1	0,7053	(0.04, 1.37)	0,901341
NSD1	1,3233	(0.07, 2.57)	0,054525
CBX3	4,9535	(2.19, 7.72)	0,000807
CBX7	0,9325	(0.37, 1.49)	0,562173
ARID1A	0,9994	(0.40, 1.60)	0,467906
HPRT1	1	(1.00, 1.00)	0

Not: Hp pozitif atrofik gastritli hastalar Hp negatif atrofik gastritlerle karşılaştırılmıştır

Tablo 21: Hp Pozitif Atrofik Gastritli Hastalar Hp Negatif Atrofik Gastritlere Göre Gen Ekspresyonların Karşılaştırılması

V. TARTIŞMA

Epigenetik mekanizmaların mide kanserinde rol aldığı bilinmektedir. Kromatin yeniden modellenmesi, kontrollu gen ekspresyonu yoluyla regülatör transkripsiyon proteinlerinin kondanse genomik DNA'nın girişine izin vermek için kromatin mimarisinin dinamik modifikasyonudur. Mide karsinogenezisinde epigenetik mekanizma olarak kromatin yeniden modellenme sisteminin de rol aldığı düşünülmektedir. Birçok çalışmada EED, MTA1, ARID1A, ING5, CBX3, CBX7, CtBP1, NSD1 gibi kromatin yenide modellenmesi ile ilgili genler karsinogenezis de anahtar roller üstlendiğini, ayrıca bu genlerin önemli birer prognostik ve tanısal marker olduğu belirtilmiştir.

Kromatin yeniden modellenme mekanizmasındaki genlerin ekspresyon profillerine göre kromatin yapısının bozulması yani epigenetik dengenin bozulmasının mide kanseri gelişimde prognozunda ve tedavi tepkilerindeki farklılıkların açıklanması açısından önemli olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda mide kanser için biyopsi alınan hastalarda son prediktör olarak epigenetik kromatin remodellenmesin rolü araştırılmış ve mide kanseri için artmış risk taşıyan atrofik gastritli hastalarla karşılaştırılması yapılmıştır. Ayrıca atrofik gastritli hastalarda mide kanser gelişim riski yönünden hasta takibinde epigenetik kromatin yeniden modellenme bir marker olarak değeride sorgulanmıştır.

Heterokromatinin protein 1 (HP1) ailesinin üyeleri heterokromatin organizasyonunda önemli rollere sahiptir. (109)

Heterokromatin protein 1 (HP1) kromatin paketlenmesi ve gen sessizleştirilmesinde rol alan non-histon kromozomal bir proteindir. 3 çeşit HP1 izoformu α, β, γ tanımlanmıştır ancak fonksiyonel olarak farklılıkları tam olarak anlaşılamamıştır.

Gen sessizleştirilmesinde epigenetik markır olan metillenmiş lysine 9 (K9) on histon H3 (H3-K9)'e bağlanarak HP1 homologları kromatin yapının

oluşturulması ve korunmasında rol alır. (110) Buna ek olarak HP1 kompleksi retinablostom ve diğerk ko-represör proteinleri ile öökromatik genlerin represyonunda rol alır. (111) HP1 telomerik ve sentomerik heterokromatin yapısını stabilize eder ve DNA onarımını kolaylaştırır. Bu kromatin onarım işlevi epigenetik histon kodlarında kodlanmış bilginin korunmasında önemlidir. HP1 γ , heterokromatin ve öökromatin yapıyı regüle ederken diğerk izoformları sadece heterokromatin de lokalizedir. (112)

HP1 γ proteini CBX3, HP1 α proteini CBX5, HP1 β proteini CBX1 tarafından kodlanır. Ancak HP1 proteinleri ve fonksiyonları ile ilgili hala çok soru işareti bulunmaktadır.

CBX5, CBX1 ve CBX3 da genlerin transkripsiyonel düzenlenmesinde rol oynayabilir. Histon ve non–histon proteinlerini tanıyarak gen ekspresyonunu regüle ettiğiki ileri sürölmüşür. (113)

Takanashi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada HP1 γ ' ın adinopogenezis sırasında önemli ölçüde azaldığı ve hücreler olgunlaştıkça HP1 γ seviyesinin azaldığı bulunmuş ayrıca ektopik HP1 γ overekspresyonunun adipoz doku differansiyasyonunu engellediğiki gösterilmiştir. Bu bulgular HP1 γ kaybının hücrelerin terminal diferansiyasyonu için gerekli olduğunu göstermektedir. HP1 γ hücre farklılaşmasında emniyet kilidi rolü olabileceğiki de iddia edilmiştir. (114)

HP1 γ gama ve HP1 proteinleri embriyogenesiz ve prostat gelişiminde de çalışılmıştır. Gelişim aşamalarında HP1 γ ekspresyonun azaldığı gösterilmiştir. (115)

Yine prostat kanseri ile yapılan bir çalışmada metastatik (98%) ve lokalize prostat kanserde (76%) benign hücrelerde (26%) oranında ekspresyon saptanmıştır. (116)

Farklılaşma kaybı birçok kanserin patogenezinde önemli bir bileşendir. Bir çalışmada HP1 γ ekspresyonu akciğerk adenokarsinomu, meme intraduktal karsinom, kolon adenokarsinom, uterus squamoz hücreli kanser ve özofagus

squamöz hücreli kanser gibi birçok kanser hücre hattı örneklerinde çalışılmış, HP1γ ekspresyonu bütün kanser örneklerinde overeksprese saptanırken normal dokularda tespit edilemez düzeyde saptanmıştır. Bu çalışmada HP1γ ekspresyonu değerlendirilmesi ile kanser hücrelerinin normal diferansiye hücrelerden ayrımı yapılabileceği önerilmiştir. Ayrıca bu çalışmada HP1γ kaybının kanser hücre büyümesini inhibe edip etmediği araştırılmıştır. HP1γ ekspresyonun kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. (114)

Bizim çalışmamız da HP1γ proteini kodlayan CBX3 geninin mide adenokanserli hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede over-eksprese olduğu saptanmıştır. Mide kanseri metastazı olanlarda metastazı olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede over-eksprese saptanmıştır. Bilindiği gibi atrofik gastrit mide kanseri öncül lezyonlarından biridir. Kronik atrofik gastrit süren kronik inflamasyona adaptif bir cevap olarak ortaya çıkar. Çalışmamızda atrofik gastritli hastalarda kontrol grubuna göre CBX3 geninin overeksprese olduğu saptandı. Helikobakter pylorinin birçok mekanizma ile mide kanserinde rol oynadığı bilinmektedir. Helikobakter pylori pozitif olan atrofik gastritli hastalarda helikobakter pylori saptanmayan gruba göre CBX3 geninin anlamlı derecede over-eksprese olduğu saptandı. Literatürde mide kanserinde CBX3 geninin ekspresyonu ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda CBX3 geni tarafından kodlanan HP1γ proteinin normal differansiye hücrelerde çok az ya da hiç bulunmadığı, kanser hücrelerinde ise over-eksprese olduğu saptanmıştır. (112, 113) Çalışmamızda HP pozitif olana HP negatif olana göre anlamlı derecede overeksprese bulunması bu genin inflamasyon aşamasında etkinliğinin başladığını düşündürmektedir. Ayrıca çalışmamızda atrofik gastritli hastalarda ve mide kanseri hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede over-eksprese saptanması CBX3 geninin mide karsinogeneizde görev aldığı ve atrofik gastritli hastalarda mide kanseri taramasında marker olarak kullanılabileceğini düşündürülebilir. Bu nedenle atrofik gastritli ve mide kanserli hastalarda mide kanseri taramasında tanısal

marker olarak değerinin belirlenebilmesi için daha ileri ve büyük çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

CBX7 chromobox protein ailesinin bir üyesidir ve Polycomb baskıcı kompleks 1 (PRC1) in yapısında yer almaktadır. Polycomb group (PcG) proteinleri epigenetik regülatörlerdir ve hücre proliferasyonu, hücre yaşlanması, tmroeneziste fonksiyonları olan multiprotein kompleksleri oluştururlar. (117)

CBX7 H3K27me3'e bağlanarak chromodomain yoluyla birçok genin ekspresyonunu kontrol edebilir (118, 119)

Chromobox 7(CBX7) ayrıca Ink4a / ARA tümör baskılayıcı lokusunun ekspresyonunu düzenleyerek normal insan hücrelerin ömrünü uzatan bir proteindir (120)

şimdiye kadar yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda kanser hücrelerinde CBX7 ekspresyon seviyelerinin düştüğü tespit edilmiştir. CBX7'in down regülasyonu ilk başlangıçta mesane karsinomlarında rapor edilmiştir. Ayrıca CBX7 mrna seviyelerinin tümör evresi ile belirgin bir azalma gösterdi bulunmuştur ve CBX7 retelyal karsinomlarda agresiflikle ilişkili olduğu gösterilmiştir. (121) CBX7' nin ekspresyon seviyeleri ile benzer bulgulara tiroid (122), meme (123), kolorektal (124), pankreas (125) ve akciğer (126) karsinomlarında da ulaşılmıştır.

Tiroid kanserinde CBX7' nin ekspresyon seviyesi RT-PCR ve immünohistokimya yöntemi ile değerlendirilmiş. CBX7 normal tiroid hücrelerinde belirginken undiferansiye anaplastik karsinoma vakaların büyük çoğunluğunda neredeyse tespit edilemeyecek kadar azalmış saptanmıştır. (122) Kolorektal karsinomlarda yapılan bir çalışmada CBX7' nin normal kolon mukozalarına göre azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca ekspresyon kaybı kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. İlginç olarak CBX7' nin down regülasyonu displazinin progresyonu ile de kolere bulunmuştur. CBX7'nin ekspresyon seviyeleri azaldıkça displazi derecesinin arttığı görülmüştür. (124) Benzer şekilde CBX7' nin protein ekspresyonunun progresif azalması pankreas

malignitelerinde de gösterilmiştir. Normal pankreas dokusu pankreas, intraepitelyal neoplazi ve duktal karsinoma doğru CBX7 seviyelerinin düştüğü hatta kaybolduğu görülmüştür. (125) CBX7 ekspresyon seviyelerinin epitel akciğer hücrelerinde kanser hücrelerine dönüşümünde azaldığı bildirilmiş. (126) Ayrıca tiroid, kolorektal ve meme kanserlerinde CBX7' nin ekspresyon seviyelerinin artması hücre büyümesini azalttığı gösterilmiştir. (122-124)

Guan ve arkadaşları 22 kolorektal, 20 mide 30 hepatoselüler kanser vakalarını RT-PCR yöntemi ile CBX7 ekspresyon seviyeleri normal hücreler ile karşılaştırmıştır. Ayrıca bu olguda klinikopatolojik özellikleri ve cerrahi sonrası hayatta kalma süreleri ile birlikte de değerlendirilmiştir. Normal hücreler ile karşılaştırıldığında HCC, CRC ve mide kanserlerinde anlamlı derecede azalma saptanmış. Kolorektal kanser hastalarında CBX7' nin ekspresyonun azalmasının kısa yaşam süresi ile ilişkili bulunmuş ancak mide ve HCC' li hastalarda gösterilememiştir. (127)

Bütün bu sonuçlar göstermektedir ki CBX7' nin ekspresyon kaybının kanser progresyonu ve kötü prognozla ilişkili bulunması CBX7' nin tümör süpresör rol oynadığını işaret etmektedir.

Bizim çalışmamızda da Guan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde mide kanseri hastalarında CBX7' nin ekspresyon kaybının kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Ayrıca metastazı olan ve lokalizasyon olarak diffüz mide yerleşimli olan mide kanserli vakalarda da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ekspresyon kaybı saptanırken, metastazı olan alt grubun metastazı olmayan gruba göre anlamlı fark bulunmadı. Mide tutulum lokalizasyonuna görede alt gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Kolorektal ve pankreas karsinomlarında displazinin artması ile CBX7' nin ekspresyonun kaybının izlenmesi bizim çalışmamızdada benzer sonuçlara ulaşıldı. Mide kanseri öncül lezyonu olan atrofik gastritli hastalarda ekspresyon kaybının istatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı saptandı.

Mide kanserinde CBX7'in ekspresyonunun atrofik gastrite göre azaldığı ancak istatistiksel olarak fark olmadığı bulundu. CBX7 ekspresyonunun bizim çalışmamız ve daha önceki yapılan çalışmalar ile birlikte değerlendirildiğinde mide kanseri oluşum süreçlerinde erken safhalardan itibaren ekspresyon kaybının izlendiği ve mide kanseri taramasında atrofik gastrit aşamasından itibaren erken bir tanı markırı olabileceğini düşündürmüştür. Ancak bunu destekleyecek daha çok çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

NSD1 kromozom remodelling sisteminde yer alan diğer gendir. Bilinen bütün metiltransferazlar SET [Su(var)3–9, Enhancer of-zeste, Trithorax] domain olarak isimlendirilen korunmuş metiltransferazlar içerir. NSD1 katalitik lysin metiltransferaz SET domaini içerir ve kromatin remodellemesinde önemli bir rol oynar. (128)

Agda Karina Lucio-Eterovica ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada NSD1' in promoter bölgenin yakınına bağlandığı ve hücre büyümesi, keratin biyolojisi, kemik morfojenezi gibi süreçlerde rol alan bazı genleri regüle ettiği gösterilmiştir. (129)

Meme kanserinde NSD1' i de kapsayan translokasyonlar bulunmuş ve nöroblastom ve gliablastomlarda CpG hipermetilasyonu yoluyla NSD1'in epigenetik inaktivasyonda rol aldığı gösterilmiştir. NSD1 geni akut miyeloid lösemide de t[5,11](q35;p15.5) translokasyonunda NUP98 geniyle füzyon oluşturarak rol aldığı gösterilmiştir. (130)

NSD1 ayrıca hormon nükleer reseptörleri ile etkileşerek hormon ilişkili genlerin ekspresyonunu da kontrol edebileceği ve hormon ilişkili genlerin kansere yol açmasında NSD1' in rol alabileceği iddia edilmiştir. (131)

NSD1 ayrıca multipl myelom ve akciğer kanserinde de rapor edilmiştir. (132)

NSD1' in kanser mekanizmasındaki rolü tam anlaşılamış olsada makrosefali, ileri kemik yaşı, yüz dimorfizmi, öğrenme güçlüğü ve nöbetler ile giden Sotos sendromunda rol aldığı gösterilmiştir. (133)

Gisela ve arkadaşlarının 14 mide kanserli hasta biyopsi örneklerinde RT-PCR yöntemi ile P2RY2, CD248, NSD1, RAB17, ABCG8 and EphB1 genlerinin ekspresyon seviyeleri normal mide mukozası ile karşılaştırılarak bakılmış ve NSD1 geninin normal mukozaya göre ekspresyonun arttığı bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamış ve mide kanserini tanımda sensitif olarak değerlendirilmemiştir. (134)

Bizim çalışmamızda da Gisela ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde mide kanserli hastalarda kontrol grubuna göre ekspresyonun arttığı ancak istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. İki çalışmadada NSD1 geninin mide kanseri patogeneğinde rol almadığı sonucuna varılmışsada bu genle ilgili daha geniş ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Polycomb grubu (PcG) proteinler tümör gelişiminde kromatin düzeyinde gen aktivitesinin düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. (135, 136)

PcG proteinleri evrimsel olarak korunmuş kromatin düzenleyicileridir. (137) PcG proteinleri polycomb repressive kompleksler (Prc) oluşturarak uzun dönem transkripsiyonel sessizleştirmeye aracılık ederler. (137) Prc'nin hedef genleri nasıl baskıladığı tam olarak anlaşılamamakla birlikte Prc1 ve Prc2 olmak üzere iki ana kompleks gösterilmiştir. Bunlar histon modifikasyonu yoluyla genlerin susturulmasını sağlarlar. (137,138) PcG proteinlerin regülasyonunda bozuklukların kansere yol açabileceği gösterilmiştir. (135,139,140) Bu nedenle PcG proteinlerini hedefleyen anti kanser tedavi stratejileri öne sürülmüştür. (141)

Prc 2 temel kromatin düzenleyici ve baskılayıcı kromatin markırıdır. Histon 3 deki lizin 27 nin trimetilasyon yoluyla hedeflenen genlerin transkripsiyonunu baskılar (139). Üç Prc2proteini, Enhancer of zeste 2 (EZH2), emrionik ektoderm development (EED) and zeste12 süpresör homolog (SUZ12) Prc2 kompleksinin merkezini oluştururlar. Bu proteinlerin ortak bir biyolojik fonksiyonu pro-diferansiyasyon genlerinin sessizleştirilmesidir. (142) EZH2 histon metiltransferaz enzimi içeren SET

domain olup Prc2 kompleksinin katalitik subünitidir. SUZ12 ve EED, EZH2'nin enzimatik aktivitesi için gereklidirler. (142,143) Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Prc2 komponentlerindeki regülasyon bozuklukları birçok kanser tipinde gösterilmiştir. Meme kanseri, over kanseri ve kolon kanseri gibi kanser dokularında EZH2 seviyelerinin anormal yüksek olduğu ve kötü prognozla ilgili olduğu saptanmıştır.

Bir çalışmada kolorektal kanserli hastalarda qRT-PCR yöntemi ile EED,EZH2 ve SUZ12 mRNA ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiş. EZH2, EED ve SUZ12 ekspresyon seviyelerinin normal mukozaya göre karşılaştırıldığında anlamlı derecede arttığı bulunmuştur ($p<0.05$). Ekspresyon seviyelerinin tümör boyutu, rejyonel lenf nodları metastazı ve uzak metastaz ve tümör evresi ile direk kolere olduğu saptanmıştır. Bundan başka kolorektal kanserli hastalarında yüksek EED, SUZ12 ve EZH2 seviyeleri kötü sağkalımı gösterdiği belirtilmiştir. (144)

Primer meme tümör hücrelerinden ve lenf nodu metastazı hücrelerinden real-time PCR yöntemi ile yapılan bir çalışmada EED ve EZH2 ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiş. Lenf nodu metastazlı tümör hücrelerinde primer tümöre göre ekspresyon seviyelerinin arttığı bulunmuştur. (145)

Aynı çalışmada Prc2 geninin metastatik hücrelerde up-regulasyon mekanizmaları araştırılmış ve lenf nodu metazlarında E2F ve MYC hedef geninde up-regulasyon ve tümör süpresör gen olan E-cadherin geninde down regulasyon saptanmıştır. (145)

EED gen polimorfizm kolorektal kanser ile ilişkisi üzerine yapılan bir çalışmada hem kolon hem de rektal kanserli hastalarda EED tek nükleotid polimorfizm genotip ve allel frekanslarının sağlıklı grup ile anlamlı fark olmadığı saptanmış. Ayrıca EED haplotip frekanslarında sağlıklı grup ile fark olmadığı gösterilmiş. Benzer şekilde tümör boyutu ve evresi ile ilişkili saptanmamış. Sadece g.-1850g>c allel frekansının rektal kanserli hastalarda

kontrol grubuna göre yüksek saptanmış ve lenf nodu metastazı yani tümör agresifliği ile ilişkili olarak değerlendirilmiş (146)

Literatürde mide kanserinde EED geni ekspresyonu ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Ancak bizim çalışmamızda kolorektal kanser, meme ve over kanserlerinde yapılan çalışmalara benzer şekilde EED geninin mide kanserlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede ekspresyonun arttığı saptandı.

Ayrıca kolorektal ve meme kanserinde yapılan çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda metastazı olan alt grupta metastazı olmayan alt gruba göre anlamlı derecede ekspresyonun arttığı saptandı. Çalışmamızda ayrıca atrofik gastritli hastalarda da EED geninin ekspresyonun arttığı bulundu. Mide kanserli hastalarda atrofik gastritli hastalara göre ekspresyonun arttığı ancak iki grup arasında anlamlı fark olmadığı saptandı. Bütün bu sonuçlar EED geninin mide kanserleşmesinde, metastaz sürecinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Ancak EED geniyle ilgili kanser araştırmalarının özellikle mide kanseri ile ilgili çalışmaların daha çok artmasıyla daha doğru verilere ulaşılabacaktır.

ING genleri tümör süpresör genlerdir. Hücresel süreçte birçok rol oynamaktadırlar. Bu genler hücre döngüsü kontrol noktalarında ve hücre siklusunun ilerlemesinde apoptozu indükleyerek rol alırlar. (147)

ING5 kromozom remodellenmesinde, DNA replikasyonunda gereklidir. P53 ile etkileşerek hücre büyümesini inhibe edebilir. Birçok in vitro ve in vivo çalışmada ING proteinlerinin apoptozu regüle ettiği görülmüştür. (148)

ING ekspresyon kaybı bu süreçlerin bozulmasına ve tümörögenezise katkıda bulunabilir. ING proteinin fonksiyon kaybı ya da down regülasyonu apoptoza dirençli birçok farklı tümör tiplerinde tanımlanmıştır. (148)

ING5 heterozigosite kaybı baş-boyun squamöz hücreli(HNSCC) kanser ve oral kanserde bulunmuştur. Cengiz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ING5 mRNA ekspresyon kaybı over kanseri ve HNSCC de

tanımlanmıştır. ING5 mRNA ekspresyon kaybı normal mukoza hücrelerine göre karşılaştırıldığında oral squamöz hücreli kanserde %61 oranında azalmış olduğu görülmüştür. (149)

Yine yakın zamanda yapılan bir çalışmada nükleer ING5 seviyesinin azalmasının HNSCC de tümörögenezisde ve tümör diferansiyasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada p300 ve p21 proteinleri ile etkileşerek apoptozu hızlandığı ve hücre döngüsünü durdurduğu görülmüştür. Ayrıca p53 ile etkileşerek tümör süpresör gen gibi davrandığı ve prognozda da rol oynadığı bildirilmiştir. (150)

Zheng ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kolorektal kanserde ve kolon adenomlarında normal neoplastik olmayan mukozaya göre ING5 ekspresyonun azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada tümör boyutu, derinliği ve derecesi ile ING5 seviyelerinin azalması arasında kolerasyon saptanmış ancak metastaz ve lenfatik ve venöz invazyon arasında kolerasyon bulunamamıştır. (151)

ING5 ekspresyon profilinin mide kanserögenezinde önemini anlamak için Xing ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ING5 ekspresyonunun gastrik displazi ve karsinomlarda normal mukozaya göre azaldığı saptanmış ve mide tümörögenezisinde erken bir belirteç olabileceği belirtilmiştir. Kromatin remodellenmesinde, DNA replikasyonunda sorumlulukları olan ING5 in azalmasının kanser oluşumuna neden olabileceği belirtilmiştir. Aynı çalışmada tümör boyutu, invazyon derinliği, lenf nodu ve lenfatik invazyonla ve kanser evresi ile ING5 azalmasının kolere olduğu saptanmıştır. Bundan dolayı ING5 ekspresyonunun tümör büyümesini invazyonu ve metastazı süprese edebileceği bildirilmiştir. Ayrıca ING5 ekspresyonunun mide kanseri hastaların sürvi ile anlamlı derecede ilişkili olduğu gösterilmiştir. (152)

Bizim çalışmamızda da yakın zamanda Xing ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde sonuçlar elde edilmiştir. ING5 ekspresyonun normal mukozaya göre anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Xing ve arkadaşlarının mide kanseri öncül lezyonu olan gastrik displazi sonuçlarına

benzer şekilde bizim çalışmamızda da mide kanseri öncül lezyonu olan atrofik gastritte de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Atrofik gastritli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede ekspresyon kaybının olduğu görülmektedir. Mide kanserli hastalarda atrofik gastritli hastalara göre ING5'in daha az eksprese olduğu ancak aralarında istatistiksel olarak fark olmadığı bulunmuştur. Yine Xing ve arkadaşlarının kanser progresyonu ve prognozu üzerine bildirdiği sonuçlara benzer şekilde çalışmamızda metastazı olan, mide de lokalizasyon olarak daha fazla yer kaplayan ve ex olan hastalarda ekspresyon kaybının azaldığı saptanmıştır. Bütün çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde ING5'in mide kanserinde erken safhalardan itibaren ekspresyonun azaldığı mide kanseri tümörögeneziste önemli rol oynadığı ve mide kanserinin agresifliği arttıkça ekspresyonun azaldığı söylenebilir. ING5 mide kanseri tanısında erken bir markır olarak da kullanılabilir.

Kromatin yeniden modellenmesi DNA metilasyonu ve ubiquitinasyon, metilasyon, fosforilasyon, asetilasyon gibi histon modifikasyonları tarafından belirlenmektedir. Histon asetilaz enzimi tarafından katalizlenen histon asetilasyonu sayesinde DNA transkripsiyona uygun hale gelirken, histon deasetilasyonu histon deasetilaz enzim ailesi (HDAC) aracılığı ile gerçekleşir ve inaktif kromatin yapısının oluşumu ve devamlılığı sağlanır. (153,154)

5 adet HDAC ko-represör kompleksi tanımlanmıştır; NuRD(nükleozom remodelling-deasetilaz),COREST,Sin3A, MIDAC ve NCoR/SMRT.

Metastaz ilişkili protein(MTA) ailesi MTA1, MTA2 ve MTA3 olmak üzere 3 tane iyi bilinen üyesi mevcuttur. MTA geni ilk olarak ratların metastatik meme adenokanserli hücrelerinde saptanmıştır ve tümör invazyonu ve metastazla pozitif ilişkide bulunmuştur. (155)

Metastaz ilişkili protein1 (MTA1) ve homologları MTA2 ve MTA3 global ve gen spesifik histon deasetilasyonu, kromatinin yapısını değiştirme ve transkripsiyonel baskılanmada rol alan NuRD ko-represör kompleksinin temel bileşenleridir. Bu kompleks ayrıca HDAC1 and HDAC2, CpG-methyl binding protein MBD3 ve ATP bağımlı kromatin remodelling protein Mi2 içerir. (156)

MTA1 ekspresyonu ve onun kodladığı proteinler meme, over, gastrointestinal sistem, pankreas, akciğer gibi birçok kanserde bulunmuştur. (157)

Yapılan çalışmalar da MTA1 in kanser hücrelerinde metastazı ve invazyonu arttırdığı bulunmuştur. (158)

Son zamanlarda yapılan çalışmalar MTA1'in diferansiyasyonu inhibe ettiği ve kanser hücrelerinde proliferasyonu arttırdığı görülmüştür. (159, 160)

MTA1 invazyon ve metastazla ilişkili bulunmuştur. MTA1 E-cadherin ile etkileşerek ve onun transkripsiyonunu baskılayarak kanser hücrelerinin invazyonuna yol açtığı bildirilmiştir. (161)

MTA1 TGF- β negatif regülatörü olarak davranan SMAD7'in transkripsiyonunu baskıladığı ve MTA1'in böylece tümörögenезis ve metastaz için gerekli olabilecek TGF- β 'ın regülasyonunda etkileri olduğu gösterilmiştir. (162)

MTA1 kanser proliferasyonu, anjiyogenez ve DNA onarımı ile de ilişkili bulunmuştur. MTA1 hücre siklusunda G1-S geçişinin artırılması yolu ile nazofarenks kanser hücrelerin artmasına yol açtığı bildirilmiştir. (163)

MTA1'in baskılanması meme kanseri hücrelerinde hücre siklusunda önemli rol oynayan siklin D1 protein düzeylerinin azalmasına yol açmaktadır. (164) Bundan başka, MTA1 mide kanserlerinde DNA tamirini artırarak hücre proliferasyonunu arttırdığı iddia edilmiştir. Çalışmada mide kanseri hücrelerinde MTA1 overekspresyonun hücre siklusunda S fazına erken geçişe yol açtığı bulunmuştur. Siklin D1 hücre siklusu döngüsünü ilerletir ve kanser hücrelerinin proliferasyonuna yol açar. Yine MTA1 overekspresyonu siklin D1 seviyesini artırarak ve hücre siklus regülatörü p21 i baskılayarak kanser hücrelerinin büyümesinde ve çoğalmasında rol oynadığı belirtilmiştir. (165)

MTA 1 tümör invazyonu, metastaz, anjiyogenez ve kötü klinik sonuçlarla ilişkili olan fibronektin, MMP2 ve MMP9 ekspresyonunu up-regüle

eder. (165) MTA1 ekspresyonunu engellemek mide kanseri hücre ilerlemesini ve mide kanserinin metastatik potansiyeli inhibe etmek için yararlı olabileceği ve antikanser tedavisi için yeni hedefler sağlayabileceği Yao ve arkadaşlarının arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gösterilmiştir. (165)

Mide kanserli hücrelerde MTA1'in çeşitli moleküler hedefleri düzenleyerek çoğalma ve yayılma süreci ile ilişkili olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada 61 mide kanserli hücre ve non-kanseröz hücreler analiz edilmiş ve çalışmada MTA1'in gastrik kanser hücrelerinde yüksek derecede fazla eksprese olduğu ve yüksek MTA1 seviyelerinin tümör boyutu lenf nodu metastazı, kanser evresi ile kolere olduğu görülmüştür. MTA1'in hücre döngüsü progresyonunu, hücre adezyonunu, hücre invazyonunu regüle ederek mide kanserinde regülatör rol alabileceği belirtilmiştir. Daha fazlası MTA1 ekspresyon seviyesininin kötü prognozla da ilişkili bulunmuştur. (165)

MTA1 ekspresyon seviyeleri (RT-PCR) yöntemi ile ratlarda kolorektal ve mide kanserlerinde değerlendirilmiştir. 36 kolorektal ve 34 mide gastrik adenokarsinom örnekleri normal mukoza ile karşılaştırılmış ve sonuçlar klinikopatolojik datalara göre de karşılaştırılmıştır. Kolon ve mide kanser hücrelerinde MTA1 overekspresyonu saptanmış. MTA1 mRNA ekspresyonunun derin invazyon, lenf nodu metastazı, tümör evresi ile anlamlı olarak korele bulunmuştur. Mide kanserlerinde serozal invazyon ve lenf nodu metastazında anlamlı olarak overeksprese saptanmış. Bu sonuçlarla mide ve kolon kanserlerinde malign potansiyel de MTA1 ekspresyonun bir indikatör olabileceği belirtilmiştir. (166)

Çalışmamızda mide kanseri hastalarında; MTA1 geni kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha fazla overeksprese olduğu saptanmıştır. Ayrıca alt grup analizlerinde ise metastazı olanlarda ve mide diffüz tutulum olanlarda daha fazla eksprese olduğu görüldü. Ayrıca MTA1 ekspresyonun metastazı olan mide kanserli hastalarda metastazı olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla eksprese olduğu saptandı. Daha önceki çalışmalarda E-cadherin, TGF- β , hücre siklus proteinlerinin, DNA tamir

mekanizmalarının mide kanserinde rol oynadığı gösterilmiştir. MTA1'in bu genlerin regülasyonunda ve DNA tamir mekanizmasında rol oynadığı daha önceki çalışmalarda saptanmıştır. Bütün sonuçlar birlikte değerlendirildiğine MTA1'in ekspresyonun artması mide kanseri oluşumda önemli rol oynamakta olabileceğini göstermektedir. Ayrıca atrofik gastritli hastalarda ekspresyonunun normal mukoza hücrelerine göre artması mide kanseri tanısında bir prediktör olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda daha önceki çalışmalara benzer şekilde metastazı olan mide kanserli hastalarda ekspresyonun arttığı bulunmuştur. Ayrıca metastazı olan alt grubun metastazı olmayan grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede overeksprese olduğu saptanmıştır. Bu da mide MTA1' in mide kanseri gelişimi yanında metastazda da rolü olduğu ve mide kanserinin progresyonu açısından da bir prediktör olabileceğini göstermektedir.

Yine yapılan çalışmalarda MTA1'in ekspresyonunun engellenmesi kanser büyümesini azalttığı saptanması MTA1'in mide kanserinde ilerde tedavi açısından da hedef olabileceğini göstermektedir. MTA1'in mide kanseri tanısı, agresiflik göstergesi ve tedavi hedefi için daha çok çalışmalara ihtiyaç vardır.

CtBP1 transkripsiyonel ko-represör olarak birçok genin ekspresyonunu regüle ederek hücre homeostazında hayati rol oynadığı bilinmektedir. (167)

CtBP1 BCL2, FOG1, VE2, ZEB, EVI-1 ve Zinc finger protein gibi birçok transkripsiyon faktörünün aktivitelerini modüle eder. (168)

CtBP1'in NAD bağımlı dehidrogenaz aktivitesi vardır ve diğer proteinlerle bir araya gelerek baskılayıcı kompleksler oluşturur. CtBP1'in enzimatik fonksiyonu onu terapötik hedef haline de getirmektedir. (169)

CtBP1 in ne tür bir mekanizmayla transkripsiyonel baskılama yaptığı belli değildir. Ancak çalışmalar histon deasetilasyonunda rol oynadığını ima etmektedir. (170)

CtBP1 ayrıca polycomb grup transkripsiyonel represör (PcG) HPC2 ile de ilişki içerisinde olduğu görülmüştür. (171)

CtBP1 tümör büyümesinde ve epitel mezenkimal değişiminde rol oynamaktadır. (172)

Myeloid lösemi hücrelerinde EVI-1 aracılı transformasyon CtBP1 bağlama motifleri etkisiz hale getirildiğinde ortadan kalkar. Buda CtBP1 in bu tür kanserlerde kanser oluşumunda ki tetikleyici rolünü ima etmektedir. (173)

Meme kanserinde yapılan çalışmada CtBP1' in apoptozu baskıladığı ve hücre siklus progresyonunu tetiklediği gösterilmiştir. (174)

Bir çalışmada CtBP1 prostat kanserinde ekspresyon oranı ve onkojenik aktivitedeki mekanizması araştırılmış ve bu çalışmada CtBP1'in overekspresyonu ve mislokalizasyonu agresif prostat kanserli hücrelerin stoplazmalarında saptanmıştır. CtBP1'in agresif kanserlerdeki mislokasyonunun mekanizması ve sitoplazmik CtBP1' in fonksiyonel önemi tam olarak izah edilememiştir. (175) Meme kanserinde yapılan bir çalışmada BRCA1 ve E-kadherinin transkripsiyonel regülasyonunun CtBP1 tarafından gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada CtBP1 ekspresyonu ile BRCA1 ve E-kadherin kaybı arasında bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. (176)

Andreas Winklmeier ve arkadaşlarının malign melanom hücre kültürlerinde malign melanom gelişimde CtBP1'in mekanizmasını anlamak için bir çalışma yapmışlar. Yapılan çalışmada proliferasyon ve koloni formasyonu oluşturma deneylerinde CtBP1 ekprese eden hücre kolonlarıyla kontrol hücre kolonları arasında fark bulunmamış. (177)

Literatürde CtBP1 mide kanseri hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada CtBP1' in ekspresyon seviyesinin azalmasının gastrik kanser hücrelerinde kolonizasyon ve migrasyon kapasitelerini azalttığı gösterilmiş. Aynı çalışmada CtBP1 in ekspresyon seviyelerinin azalmasının kemoterapiye yanıtı arttırdığı görülmüştür. (178) Çalışmamızda atrofik gastrit ve mide kanserli hastalarda kontrol grubuna göre ekspresyonun arttığı ancak kontrol

grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur. Literatürde CtBP1 geninin mide kanseri patogeneziindeki rolünü gösteren çalışmalar çok azdır. Bizde çalışmamızda CtBP'in mide kancerindeki rolünü destekleyecek sonuçlara ulaşamadık. CtBP1 in mide kanserindeki çalışmalarının artması ile daha anlamlı sonuçlara ulaşılabilecektir.

SWI/SNF kromatin remodelling kompleksi diferansiyasyon, proliferasyon ve DNA tamir gibi birçok hücre sürecinde rol alır. (179)

SWI/SNF subünit kaybı birçok tümörde rapor edilmiştir ve yapılan çalışmalarda bu kompleksin tümör supresyonunda kritik rol oynadığı gösterilmiştir. Bu kompleksin bir subuniti olan hSNF5/Ini1/BAF47 tümör süpresör olarak belirlenmiştir. (180,181)

Diğer non-katalitik subünit p270/ARID1A/BAF250 (adenine-thymine AT-rich interactive domain-containing protein1A-ARID1A)'in hücre döngüsünde gerekli olduğu gösterilmiştir. (182)

Lösemi hücre hatlarında ARID1A baskılanmasının apoptoza direnç kazandırdığı görülmüştür. (183)

ARID1A SWI/SNF kromatin remodelling kompleksinin önemli bir bileşenidir. Gelişme ve farklılaşma proliferasyonu, çeşitli hücresel süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar. SWI/SNF kompleksi p53 geni ile direkt veya indirek olarak etkileşerek p53 alt hedef genlerin transkripsiyonunu düzenler. ARID1A tümör supresyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. (184) Wang ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada mide kanserinde ARID1A ekspresyonun klinikopatolojik özellikler, sağ kalım arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için RT-PCR, western blot ve immünohistokimyasal yöntemlerle ARID1A ekspresyon seviyeleri analiz edilmiştir. Ayrıca ARID1A'nın primer gastrik kanser tümörögenезisinde fonksiyonel rolünü mide hücre hatlarında in vitro çoğalması ve koloni oluşumunu inceleyerek değerlendirilmiştir. (184) ARID1A ekspresyon seviyelerinin tümör hücrelerinde normal hücrelere göre anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır. Çalışmada ARID1A ekspresyon kaybının tümör boyutu, evresi, lenf nodu ve uzak

metastaz, tümör infiltrasyonu ile anlamlı derecede korele olduğu gösterilmiştir. Hastaların genel sağ kalımı da ARID1A ekspresyonu pozitif olan hastalarda negatif olanlara göre daha kötü bulunmuştur. (184)

Mide kanseri hücre kültürlerine ARID1A ve kontrol ekspresyon vektörleri eklenerek yapılan hücre kültürü deneyinde ise ARID1A transferi olanlarda kanser hücrelerinin büyüme hızının anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir. Aynı zamanda ARID1A transferi olanlarda kanser hücrelerinin koloni formasyonu yeteneklerinin inhibe edildiği görülmüştür. (184) ARID1A'nın proliferasyon baskılama fonksiyonunu daha iyi anlamak için normal mide hücre hatlarında siRNA ile ARID1A ekspresyonu baskılanmış ve hücre proliferasyonunun anlamlı düzeyde arttığı bulunmuş (184). ARID1A baskılanma nedenleri tam olarak anlaşılmamıştır. Endometrium, over berrak hücreli karsinomda non-sense yada indel mutasyonların ARID1A kaybı veya azalması ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. (185)

Wang ve arkadaşlarının ve Zang ve arkadaşlarının ekson sekans yöntemi ile mide kanserinde yaptıkları çalışmada ARID1A mutasyonlarının ARID1A proteinlerinin azalmasına veya kaybına yol açtığı bulunmuştur.

Her iki çalışmada da mide kanserleri örneklerinde ARID1A değişikliklerinin MSI (mikrosatellit instabilitesi) da MSS (mikrosatellit stabilitesi) ye göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. (186,187)

Mikrosatellitler genomik DNA'daki kısa sekanslardır, eğer tamir süreci hasar görürse, mikrosatellit sekansları nükleotidleri kazanabilir ya da kaybedebilir ve bu olgu mikrosatellit instabilite (MSI) olarak adlandırılır. Sonuç olarak, mikrosatellitlerin uzunluğundaki değişiklik altta yatan DNA tamir işlevindeki yetersizliğin göstergesidir.

DNA mis-match tamir (MMR) genlerinin epigenetik değişimi mikrosatellit instabiliteye yol açarak mide kanserinde artmış riskle birlikte olduğu bilinmektedir. MSI mide kanserini başlatan genomik süreçte rolü olduğu bulunmuş ve sporadik mide kanserlerinde 25%-50% oranında tespit edilmiştir. (188)

ARID1A ekspresyon değişikliklerinin mikrosatellit instabilitesi, MMR genlerini ile ilişkili bulunması (186,187) ARID1A'nın mide kanserindeki önemini daha çok arttırmaktadır. Gastrik kanserlerde ARID1A değişiklikleri ile MSI durumu arasındaki klinikopatolojik ilişkinin öneminin anlanması için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bizim çalışmamızda da Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde mide kanserli hastalarda kontrol grubuna göre yani normal mukozaya göre anlamlı derecede ekspresyon kaybı olduğu görülmüştür. Ayrıca çalışmalarda ARID1A'nın metastaz ve prognozla ilişkisine benzer şekilde çalışmamızda metastatik olan, mide diffüz tutulum seyreden ve mide kanserinden ex olan yani sürvi kısa olan hastalarda da ARID1A'nın kontrol grubuna göre anlamlı derecede down-eksprese olduğu saptanmıştır.

Kronik inflamasyonun mismatch tamir mekanizması ve genetik instabilite yoluyla mide kanseri oluşumda rolü olduğu bilinmektedir. (189) Atrofik gastritinde kronik inflamasyona sekonder ortaya çıktığında bilinmektedir. Çalışmamızda da atrofik gastritli hastaların ARID1A ekspresyon kaybının kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. ARID1A ekspresyon kaybının artması mide kanseri oluşumda önemli rol oynadığı ve yapılan çalışmalarda MSI'nın kanser oluşumunda erken evrelerde başlaması (190) ve ARID1A ekspresyon kaybının MSI oluşumunu artırması (191) ARID1A'nın mide kanserini erken tanımda rolü olabileceğini göstermektedir.

VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda mide kanserli hastalarda epigenetik kromatin yeniden modellenme genlerinin rolü araştırılmış ve EED, NSD1, ING5, CtBP1, MTA1, CXB3, CXB7, ARID1A genlerinin ekspresyon profilleri analiz edilmiştir ve değerlendirilmiştir. Ekspresyon oranları normal mukoza ve atrofik gastrit ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca mide kanserli hastalarda metastaz durumuna, mide tutulum lokalizasyonuna ve hastaların sürvine göre; atrofik gastritli hastalarda da Hp pozitifliğine göre ekspresyon değerleri karşılaştırılmıştır.

Mide kanserli hastalarda EED, MTA1, CXB3 genlerinin kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek eksprese olduğu; ING5, CXB7, ARID1A genlerinin ise anlamlı derecede ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. Metastatik mide kanseri hastalarında ise metastaz göstermeyen mide kanseri hasta grubuna oranla EED,MTA1,CBX3 genlerinde yüksek ekspresyon izlenmiştir. Diffüz tip mide kanseri hastalarında diffüz tutulum olmayan mide kanseri hastalarına oranla ve exitus olan hastalarda yaşayan hastalara oranla gen ekspresyonunda anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Ag'li hastalarında kontrol grubuna oranla EED, MTA1, CXB3 genlerinin overeksprese, ING5, CXB7, ARID1A genlerin de ise ekspresyon kaybı olduğu görülmüştür. Mide kanseri hastaları ile karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgular eşliğinde ING5, CXB7, ARID1A, EED, MTA1, CXB3 ekspresyon profillerinin değişimlerinin atrofik gastrit oluşumundan itibaren başladığı düşünülebilir.

Çalışmamızda elde edilen bu sonuçlar; ING5, CXB7, ARID1A, EED, MTA1, CXB3 yeniden modellenme genlerinin mide kanseri patogenezinde rol aldığını, mide kanseri için önemli bir tanısal ve prognostik markerlar olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca genlerinin EED,MTA1,CBX3 metastatik mide kanserli hastalarında yüksek bulunması bu genlerin tümör agresifliği ile de ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle bu genlerin mide kanseri ilişkili mide karsinogenezindeki rolünün değerlendirilmesi ve

atrofik gastritli hastalarda mide kanseri taramasında marker olarak kullanılabilmesi için daha ileri ve büyük çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır

VII. ÖZET

Giriş ve Amaç: Atrofik gastrit, mide kanseri gelişmesi için önemli bir risk faktörüdür. Epigenetik kromatin yeniden modellenmesi karsinogenezisde önemli görevler üstlenmektedir. Çalışmamızda atrofik gastrit ve mide kanseri hastalarında kromatin yeniden modellenme sistemine ait genlerin tanısal ve prognostik marker olarak değerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 34 mide kanserli, 36 atrofik gastritli ve 25 kontrol olgu olmak üzere toplam 95 kişi çalışmaya dahil edildi. Mide kanseri, Ag ve kontrol gruplarının RT-PCR array yöntemi ile kromatin yeniden modellenme gen ekspresyonları değerlendirildi ve karşılaştırıldı. Atrofik gastrit hastaları mide kanseri için risk faktörü olarak kabul edilen Helikobakter Piloni (Hp) varlığına göre alt gruplara ayrılarak gen ekspresyonu yapıldı. Mide kanseri hastalarında prognostik önemi olan, tümör agresifliğini ve tümör yükünü gösteren metastaz varlığı, mide de lokalizasyonuna göre alt gruplara ayrılarak gen ekspresyon analizi yapıldı.

Bulgular: Mide kanserli ve Ag'li hastalarda genlerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde ING5, CXB7, ARID1A, EED, MTA1, CXB3 genlerinin ekspresyon profillerinin değiştiği saptandı. Metastatik mide kanseri hastalarında metastaz göstermeyen hastalara oranla EED,MTA1,CBX3 genlerinin anlamlı olarak yüksek eksprese olduğu görüldü. Mide kanseri hastaları ile atrofik gastrit hastaları karşılaştırıldığında gen ekspresyonlarında anlamlı bir fark bulunmadı.

Sonuç: ING5, CXB7, ARID1A, EED, MTA1, CXB3 genlerinin mide karsinogenezinde görev aldığı ve atrofik gastrit oluşumundan itibaren mide kanseri erken tanısında önemli bir marker olarak kullanılabileceğini ve bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Mide kanseri, Atrofik gastrit, EED, NSD1, ING5, CtBP1, MTA1, CXB3, CXB7, ARID1A

VIII. SUMMARY

Introduction: Atrophic Gastritis is an important risk factor in the formation of gastric cancer. The remodelling of Epigenetic chromatin plays a vital role in carcinogenesis. In Our Study we aimed at researching the value of genes in the chromatin remodelling system as diagnostic and prognostic markers in atrophic gastritis and gastric cancer patients.

Materials And Method: Our study consisted of 95 individuals which included 34 Gastric cancer, 36 atrophic gastritis and 25 control patients. Chromatin remodelling Gene expressions in gastric cancer, atrophic gastritis and control groups were evaluated and compared using RT-PCR array method. Atrophic Gastritis patients were separated into subgroups depending on the presence of H.Pylori, a risk factor for gastric cancer, and gene expression was carried out. Gastric cancer patients were divided into subgroups according to prognostic features of tumor aggressiveness, metastasis presence and gastric location and then gene expression was analyzed.

Results: A significant change in gene expression profiles of ING5, CXB7, ARID1A, EED, MTA1, CXB3 were found in gastric cancer and atrophic gastritis patients compared to the control group. EED, MTA1, CBX3 genes showed a significant high expression in metastatic gastric cancer patients in proportion to non-metastatic patients. There was no significant difference found in gene expression in gastric cancer patients compared to Atrophic gastritis patients.

Conclusion: The genes ING5, CXB7, ARID1A, EED, MTA1, CXB3 play a role in gastric carcinogenesis and these genes can be used as early diagnostic markers for gastric cancer even in early atrophic gastritis, however we feel there is need to do further studies on the topic.

Keywords: Gastric cancer, Atrophic Gastritis, EED, NSD1, ING5, CtBP1, MTA1, CXB3, CXB7, ARID1A

IX. KAYNAKLAR

1. Global burden of disease (GBD), 2002 estimates. World Health Organization, 2008. www.who.int/healthinfo/bodgbd2002/en/index.html.
2. Crew KD, Neugut AI: Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12:354-62. .
3. Sugiyama T. Development of gastric cancer associated with *Helicobacter pylori* infection. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2004; 54: 12-20.
4. Zwick A, Munir M, Ryan C, et al. Gastric adenocarcinoma and dysplasia in fundic gland polyps of a patient with attenuated adenomatous polyposis coll. *Gastroenterology* 1997; 113:659-663.
5. Nishi M, Ishihara S, Nakajima T, et al: Chronological changes of characteristics of early gastric cancer and therapy: experience in the Cancer Institute Hospital of Tokyo, 1950-1994 *J Cancer Res Clin Oncol* 1995; 121:535-41.
6. Beşışık F: Mide ve Duodenum hastalıkları. In: Ökten A, Mungan Z, Çakaloğlu Y. *Gastroenterohepatoloji*. 1 ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001; 70.
7. Cecilia M. Fenoglio- Preiser, *Gastrointestinal Pathology An Atlas and Text* , Third Edition, 2008,; 135–269.
8. Tsai HC, Baylin SB. Cancer epigenetics: linking basic biology to clinical medicine. *Cell Research* 2011; 21(3):502-507.
9. Wu JI, Lessard J, Crabtree GR. Understanding the words of chromatin regulation. *Cell* 2009; 136:200-6.
10. Davis B, Brachman R. Chromatin remodeling and cancer. *Cancer Biology & Therapy* January/February 2003; 2:1, 24-31.
11. <http://www.hubres.info/> sitesinden alınmıştır.
12. Chan AO, Wong BC, Lam SK. Gastric cancer: Past, present and future. *Can J Gastroenterol* 2001; 15: 469-474.
13. Ferlay J, Bray F, Pisani P, et al: GLOBOCAN 2002: cancer incidence. Mortality and prevalence IARC cancer base no. 5, version.
14. Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61:69.
15. Zhu AL, Sonnenberg A. Is gastric cancer again rising? *J Clin Gastroenterol* 2012; 46:804-806.
16. Correa P. Gastric cancer: two epidemics? *Dig Dis Sci* 2011; 56:1585-1586.

17. Tatematsu M, Takahashi M, Fukushima S, et al. Effects in rats of sodium chloride on experimental gastric cancers induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinoline-1-oxide. *J Natl Cancer Inst* 1975; 55:10-101-106.
18. Takahashi M, Kokubo T, Furukawa F, et al. Effects of sodium chloride, saccharin, phenobarbital and aspirin on gastric carcinogenesis in rats after initiation with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gan* 1984; 75:494.
19. Jakszyn P, Bingham S, Pera G, et al. Endogenous versus exogenous exposure to N-nitroso compounds and gastric cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST) study. *Carcinogenesis* 2006; 27:1497.
20. You WC, Zhang L, Yang CS, et al. Nitrite, N-nitroso compounds, and other analytes in physiological fluids in relation to precancerous gastric lesions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5:47-52.
21. Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric Cancer* 2007; 10:75-83.
22. Yang P, Zhou Y, Chen B, et al. Overweight, obesity and gastric cancer risk: results from a meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cancer* 2009; 45:2867-73.
23. Powell J, McConkey CC. Increasing incidence of adenocarcinoma of the gastric cardia and adjacent sites. *Br J Cancer* 1990; 62:440-443.
24. Takeno S, Hashimoto T, Maki K, et al. Gastric cancer arising from the remnant stomach after distal gastrectomy: a review. *World J Gastroenterol* 2014; 20:13734-40.
25. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *Journal of Clinical Epidemiology* 2003, 56: 1-9.
26. Iizasa H, Nanbo A, Nishikawa J, Jinushi M, Yoshiyama H. Epstein-Barr Virus(EBV)-associated gastric carcinoma. *Viruses* 2012 Dec;4(12):3420-39.
27. Siurala M, Varis K, Wiljasalo M. Studies of patients with atrophic gastritis: a 10-15-year follow-up. *Scand J Gastroenterol* 1966; 1:40-48.
28. Zabaleta J. MicroRNA: A Bridge from H. pylori Infection to Gastritis and Gastric Cancer Development. *Front Genet* 2012 Dec 14;3:294.
29. Mobley HLT. The role of H.Pylori urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration: *Aliment Pharmacol Ther* .1996; 10(1) : 57-64.
30. Mannick EE, Bravo LE, Zarama G, et al. Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine, and apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis: effect of antibiotics and antioxidants. *Cancer Res* 1996; 56:3238-43.

31. Edgren G, Hjalgrim H, Rostgaard K, et al. Risk of gastric cancer and peptic ulcers in relation to ABO blood type: a cohort study. *Am J Epidemiol* 2010; 172:1280-85.
32. Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, et al. Familial gastric cancer: genetic susceptibility, pathology, and implications for management. *Lancet Oncol* 2015; 16:e60-e70.
33. Robbins, KC. Basic Pathology. Çeviri: Çevikbaş U. Temel Patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2000: 487-489.
34. Yashiro M, Chung YS, Nishimura S, et al. Establishment of two new scirrhous gastric cancer cell lines: analysis of factors associated with disseminated metastasis. *Br J Cancer* 1995; 72:1200-1210.
35. Humar B, Graziano F, Cascinu S, et al. Association of CDH1 haplotypes with susceptibility to sporadic diffuse gastric cancer. *Oncogene* 2002; 21:8192-95.
36. Henson DE, Dittus C, Younes M, et al. Differential trends in the intestinal and diffuse types of gastric carcinoma in the United States, 1973-2000: increase in the signet ring cell type. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128:765-770.
37. Vedat Göral. Mide kanserinde etyopatogenez. *Güncel gastroenteroloji* 19/1. 2015:48-56.
38. Ono H, Kondo H, Gotoda T, et al. Endoscopic mucosal resection fortreatment of early gastric cancer. *Gut* 2001; 48: 225-9.
39. Kajitani T. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. Part I. Clinical classification. *Jpn J Surg* 1981; 11:127-139.
40. John C. Layke, Peter P. Lopez. Gastric cancer: Diagnosis and treatment. *Am Fam. Physician* 2004; 69: 1133-40.
41. Kapan M. Mide kanseri. Tanı ve cerrahi tedavi. *Gastrointestinal sistem hastalıkları sempozyumu*. 11 -12 Ocak 2001, İstanbul, s: 253-269.
42. Lázaro ML. A New View of Carcinogenesis and an Alternative Approach to Cancer Therapy. *Molmed*. 2010;16 :(3 - 4): 144 - 153.
43. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: { 191170}: { 5/12/2009}:.World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.
44. Jiang HB, Yang TJ, Lu P, Ma YJ. Gene expression profiling of gastric cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(15):2109-15.
45. Gomceli I, Demiriz B, Tez M. Gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2012 Oct 7;18(37):5164-70.

46. Grabsch HI, Tan P. Gastric cancer pathology and underlying molecular mechanisms. *Dig Surg* 2013;30(2):150-8.
47. Lee KH, Lee JS, Suh C, et al: Clinicopathologic significance of the K-ras gene codon 12 point mutation in stomach cancer. An analysis of 140 cases. *Cancer* 1995; 75: 2794–2801.
48. Corso G, Velho S, Paredes J, et al: Oncogenic mutations in gastric cancer with microsatellite instability *Eur J Cancer* 2011; 47: 443–451.
49. Kuniyasu H, Yasui W, Kitadai Y, et al: Frequent amplification of the c-met gene in scirrhous type stomach cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 189:227–232.
50. Toyokawa T, Yashiro M, Hirakawa K: Co-expression of keratinocyte growth factor and K-sam is an independent prognostic factor in gastric carcinoma. *Oncol Rep* 2009; 21: 875–880.
51. Hattori Y, Itoh H, Uchino S, et al: Immunohistochemical detection of K-sam protein in stomach cancer *Clin Cancer Res* 1996; 2: 1373–1381.
52. Tsujino T, Yoshida K, Nakayama H, et al : Alterations of oncogenes in metastatic tumours of human gastric carcinomas. *Br J Cancer* 1990; 62: 226–230.
53. Ueki T, Koji T, Tamiya S, Nakane PK, Tsuneyoshi M: Expression of basic fibroblast growth factor receptor in advanced gastric carcinoma. *J Pathol* 1995; 177: 353–361.
54. Gravalos C, Jimeno A: HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann Oncol* 2008; 19: 1523–1529.
55. Tohdo H, Yokozaki H, Haruma K, et al: p53 gene mutations in gastric adenomas. *Virchows Arch* 1993; 63: 191–195.
56. Chung HW, Lim JB. Role of the tumor microenvironment in the pathogenesis of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014 Feb 21;20(7):1667-80
57. Hsu PI, Hsieh HL, Lee J, et al: Loss of RUNX3 expression correlates with differentiation, nodal metastasis, and poor prognosis of gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 1686–1694.
58. Kim TY, Lee HJ, Hwang KS, et al: Methylation of RUNX3 in various types of human cancers and premalignant stages of gastric carcinoma. *Lab Invest* 2004; 84: 479–484.
59. Yokozaki H, Shitara Y, Fujimoto J, et al. Alterations of p73 preferentially occur in gastric adenocarcinomas with foveolar epithelial phenotype. *Int J Cancer* 1999; 83:192-96.
60. Ushiku T, Chong JM, Uozaki H, et al. p73 gene promoter methylation in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Int J Cancer* 2007; 120:60-66.

61. Tomkova K, Belkhiri A, El-Rifai W, et al. p73 isoforms can induce T-cell factor-dependent transcription in gastrointestinal cells. *Cancer Res* 2004; 64:6390.
62. Horii A, Nakatsuru S, Miyoshi Y, et al: The APC gene, responsible for familial adenomatous polyposis, is mutated in human gastric cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 3231–3233.
63. Akama Y, Yasui W, Yokozaki H, et al. Frequent amplification of the cyclin E gene in human gastric carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1995; 86:617-621.
64. Bani-Hani KE, Almasri NM, Khader YS, et al. Combined evaluation of expressions of cyclin E and p53 proteins as prognostic factors for patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11:1447-1453.
65. Takano Y, Kato Y, van Diest PJ, et al. Cyclin D2 overexpression and lack of p27 correlate positively and cyclin E inversely with a poor prognosis in gastric cancer cases. *Am J Pathol* 2000; 156:585-94.
66. So JB, Samarasinghe K, Raju GC, et al. Expression of cell-cycle regulators p27 and cyclin E correlates with survival in gastric carcinoma patients. *J Surg Res* 2000; 94:56-60.
67. Kuzushita N, Rogers AB, Monti NA, et al. p27kip1 deficiency confers susceptibility to gastric carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected mice. *Gastroenterology* 2005; 129:1544-56.
68. Wang F, Sun GP, Zou YF, et al. MicroRNAs as promising biomarkers for gastric cancer. *Cancer Biomark* 2012;11(6):259-67.
69. McLean MH, El-Omar EM. Genetic of gastric cancer. *Nat Rev GastroenterolHepatol* 2014 Aug 19 11:664-74.
70. Grabsch H, Kerr D, Quirke P: Is there a case for routine clinical application of ploidy measurements in gastrointestinal tumours? *Histopathol* 2004; 45: 312–334.
71. Hayden JD, Martin IG, Cawkwell L, et al: The role of microsatellite instability in gastric carcinoma. *Gut* 1998; 42: 300–303.
72. Vauhkonen M, Vauhkonen H, Sajantila A, et al: Differences in genomic instability between intestinal- and diffuse-type gastric cancer. *Gastric Cancer* 2005; 8: 238–244.
73. Kim H, An JY, Noh SH, et al: High microsatellite instability predicts good prognosis in intestinal-type gastric cancers. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 585–592.
74. Yakirevich E, Resnick MB. Pathology of gastric cancer and its precursor lesions. *Gastroenterol Clin North Am* 2013;42:261-84.

75. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med 1991; 325: 1127-31.
76. Correa P. Helicobacter pylori and gastric carcinogenesis. Am J Surg Pathol 1995; 19: 37-43.
77. Michael F, Dixon MD, Path FRC, et al. Classification and grading of gastritis. The Updated Sydney System. Am J Surg Pathol 1996; 20: 1161-1181.
78. Rugge M, Correa P, Dixon MF, et al. Gastric mucosal atrophy: interobserver consistency using new criteria for classification and grading. Aliment Pharmacol Ther 2002;16: 1249-59.
79. Filipe MI, Munoz N, Matko I, et al. Intestinal metaplasia type and the risk of gastric cancer: a cohort study in Slovenia (abstract). Int J Cancer 1994; 57: 324-9.
80. Rugge M, Farinati F, Baffa R, et al. Gastric epithelial dysplasia in the natural history of gastric cancer: a multicenter prospective follow-up study. Interdisciplinary Group on Gastric Epithelial Dysplasia. Gastroenterology 1994;107:1288-96.
81. Özgür HARMANCI, Murat KORKMAZ. Premalign Mide Lezyonları. güncel gastroenteroloji 18/1.2014:67-71.
82. Kim YJ, Park JC, Kim JH, et al. Histologic diagnosis based on forceps biopsy is not adequate for determining endoscopic treatment of gastric adenomatous lesions. Endoscopy 2010;42:620-6.
83. Kasuga A, Yamamoto Y, Fujisaki J, et al. Clinical characterization of gastric lesions initially diagnosed as low-grade adenomas on forceps biopsy. Dig Endosc 2012;24:331-8.
84. de Vries AC, van Grieken NC, Looman CW, et al. Gastric cancer risk in patients with premalignant gastric lesions: a nationwide cohort study in the Netherlands. Gastroenterology 2008;134:945-52.
85. Martin C, Zhang Y. Mechanisms of epigenetic inheritance. Curr Opin Cell Biol 2007; 19(3):266-272.
86. Young Zoon Kim. Altered Histone Modifications in Glioma. Brain Tumor Res Treat. 2014 ;2(1):7-21.
87. Robertson DK. DNA methylation and human disease. Nature Rev Genet 2005; 6:597-610.
88. Bird, A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. Genes Dev. (16) 2002, 6-21.
89. Egger G, Liang G, Aparicio A, et al. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. Nature 2004; 429:457-63.

90. Herman JG, Baylin SB. Gene Silencing in cancer in association with promoter.N Engl J Med. 2003 Nov 20;349(21):2042-54.
91. Zhu J, Yao X. Use of DNA methylation for cancer detection and molecular classification. J Biochem Mol Biol 2007;40:135-41.
92. Klung SW, Cummings RM. Genetik kavramlar (concepts of genetics. 6. baskıdan çeviri, Çev. Ed. Öner C.). 2002: 434-42 .
93. Strahl DB, Allis D. The language of covalent histone modifications. Nature 2000; 403:41-5.
94. Grant AP. A tale of histone modifications. Genome Biol 2001; 2:1-6.
95. Peterson LC, Lanier M. Histones and histone modifications. Curr Biol 2004; 14:546-51.
96. Kundu, T.K. and DASGUPTA, D., eds, 2007. Chromatin and Disease – Subcellular Biochemistry. New York: Springer Science. 41 : 29-43.
97. Wilson BG, Roberts CW. SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer. Nat Rev Cancer 2011; 11:481-92.
98. Weissman B, Knudsen KE. Hijacking the chromatin remodeling machinery: impact of SWI/SNF perturbations in cancer. Cancer Res 2009;69:8223-30.
99. Hargreaves DC, Crabtree GR. ATP-dependent chromatin remodeling: genetics, genomics and mechanisms. Cell Res 2011; 21:396-420.
100. VIGNALI, M., HASSAN, A., NEELY, et al. ATP-dependent chromatin-remodeling complexes. Molecular and cellular biology, 2000;20(6), 1899-1910.
101. WANG, G., ALLIS, C. and CHI, P. Chromatin remodeling and cancer, part II: ATP-dependent. 2007 Sep; 13(9): 373–380.
102. CAMEL, J., MEDJANE, S., QUIGNON, et al., O. The requirement for SNF5/INI1 in adipocyte differentiation highlights new features of malignant rhabdoid tumors Oncogene. 2008 Mar 27;27(14):2035-44.
103. DEMERET, C., VASSETZKY, Y. and MECHALI, M. Chromatin remodelling and DNA replication: from nucleosomes to loop domains Oncogene. 2001 May 28;20(24):3086-93.
104. Hassan AH, et al. Function and selectivity of bromodomains in anchoring chromatin-modifying complexes to promoter nucleosomes. Cell. 2002; 111:369–379.
105. Kadoch C, Hargreaves DC, Hodges C, et al. Proteomic and bioinformatic analysis of mammalian SWI/SNF complexes identifies extensive roles in human malignancy. Nat Genet 2013 ; 45 :592- 601.

106. BAO, Y. and SHEN, X. SnapShot: Chromatin Remodeling Complexes. *Cell*. 2007 May 4;129(3):632.
107. Wu JI, Lessard J, Crabtree GR. Understanding the words of chromatin regulation. *Cell* 2009; 136:200-6ç.
108. Davis B, Brachman R. Chromatin remodeling and cancer. *Cancer Biology & Therapy* January/February 2003; 2:1, 24-31.
109. Eissenberg JC, Elgin SC: The HP1 protein family: getting a grip on chromatin. *Curr Opin Genet Dev* 2000, 10:204–210.
110. Luijsterburg M.S., Dinant C., Lans H. et al. Heterochromatin protein 1 is recruited to various types of DNA damage. *J. Cell Biol.* 2009;185:577–586.
111. Nielsen SJ, Schneider R, Bauer UM, et al. : Rb targets histone H3 methylation and HP1 to promoters. *Nature* 2001, 412:561–565.
112. Minc E, Courvalin JC, Buendia B: HP1gamma associates with euchromatin and heterochromatin in mammalian nuclei and chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 2000, 90:279–284.
113. Lomberk G, Wallrath L, Urrutia R. The heterochromatin protein 1 family. *Genome Biol* 2006;7(7):228.
114. Takanashi M, Oikawa K, Fujita K, et al: Heterochromatin protein 1gamma epigenetically regulates cell differentiation and exhibits potential as a therapeutic target for various types of cancers. *Am J Pathol* 2009, 174(1):309–316.
115. . Shapiro E, Huang H, Ruoff R, et al: The heterochromatin protein 1 family is regulated in prostate development and cancer. *J Urol* 2008, 179(6):2435–2439.
116. Jon Slezak, Matthew Truong, Wei Huang, al.: HP1γ expression is elevated in prostate cancer and is superior to Gleason score as a predictor of biochemical recurrence after radical prostatectomy. *BMC Cancer* 2013 13:148.
117. Gil J, Bernard D, Peters G: Role of polycomb group proteins in stem cell self-renewal and cancer. *Dna Cell Biol* 2005, 24(2):117-125.
118. Schuettengruber B, Chourrout D, Vervoort M, et al. Genome regulation by polycomb and trithora proteins. *Cell* 2007; 128: 735-745.
119. Wu JI, Lessard J and Crabtree GR. Understanding the words of chromatin regulation. *Cell* 2009; 136: 200-206.
120. Gil J, Bernard D, Martinez D, Beach D Polycomb CBX7 has a unifying role in cellular lifespan. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 67–72.
121. Hinz S, Kempkensteffen C, Christoph F, et al. Expression parameters of the polycomb group proteins BMI1, SUZ12, RING1 and CBX7 in urothelial carcinoma of the bladder and their prognostic relevance. *Tumour Biol.* 2008;29(5):323-9.

122. Pallante P, Federico A, Berlingieri MT, et al. Loss of the CBX7 gene expression correlates with a highly malignant phenotype in thyroid cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 6770-6778.
123. Mansueto G, Forzati F, Ferraro A, et al. Identification of a New Pathway for Tumor Progression: MicroRNA-181b Up-Regulation and CBX7 Down-Regulation by HMGA1 Protein. *Genes Cancer* 2010; 1: 210-224.
124. Pallante P, Terracciano L, Carafa V, et al. The loss of the CBX7 gene expression represents an adverse prognostic marker for survival of colon carcinoma patients. *Eur J Cancer* 2010; 46: 2304-2313
125. Karamitopoulou E, Pallante P, Zlobec I, et al.. Loss of the CBX7 protein expression correlates with a more aggressive phenotype in pancreatic cancer. *Eur J Cancer* 2010; 46: 1438-1444.
126. Forzati F, Federico A, Pallante P, et al. CBX7 is a tumor suppressor in mice and humans. *J Clin Invest* 2012; 122: 612-623.
127. Guan ZP, Gu LK, Xing BC, et al. Downregulation of chromobox protein homolog 7 expression in multiple human cancer tissues. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2011; 45: 597-600.
128. R. Schneider, A.J. Bannister, T. Kouzarides, Unsafe SETs: histone lysine methyltransferases and cancer, *Trends Biochem. Sci.* 27 (2002) 396–402.
129. A.K. Lucio-Eterovic, M.M. Singh, J.E. Gardner, et al. Role for the nuclear receptor-binding SET domain protein 1 (NSD1) methyltransferase in coordinating lysine 36 methylation at histone 3 with RNAPolymerase II function, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107 (2010) 16952–16957.
130. Rina J. Jaju, Carrie Fidler, Oskar A. Haas, et al. A novel gene, NSD1, is fused to NUP98 in the t(5;11)(q35;p15.5) in de novo childhood acute myeloid leukemia. *Blood* 98,2001;1264–1267
131. N Huang, E vom Baur, J M Garnier, et al. Two distinct nuclear receptor interaction domains in NSD1, a novel SET protein that exhibits characteristics of both corepressors and coactivators. *EMBO J.* 1998 ;17,3398–3412
132. Morishita M, di Luccio E. Cancers and the NSD family of histone lysine methyltransferases. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1816:158–63.
133. Kurotaki N1, Imaizumi K, Harada N, et al. Haploinsufficiency of NSD1 causes Sotos syndrome. *Nat Genet* 2002;30:365–366.
134. Aquea G1, Bresky G, Lancellotti D, et al. Increased expression of P2RY2, CD248 and EphB1 in gastric cancers from Chilean patients *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(5):1931-6

135. Lin YW, Chen HM, Fang JY Gene silencing by the Polycomb group proteins and associations with cancer. *Cancer Invest* 2011;29:187–195..
136. Piunti A, Pasini D (2011) Epigenetic factors in cancer development: polycomb group proteins. *Future Oncol* 2011;7:57–75.
137. Richly H, Aloia L, Di Croce L Roles of the Polycomb group proteins in stem cells and cancer. *Cell Death Dis* 2011;2:e204.
138. Ku M, Koche RP, Rheinbay E et al Genomewide analysis of PRC1 and PRC2 occupancy identifies two classes of bivalent domains. *PLoS Genet* 2008;4:e1000242.
139. Cao W, Feng Z, Cui Z, et al. EZH2 promotes malignant phenotypes and is a predictor of oral cancer development in patients with oral leukoplakia. *Cancer Prev Res* 2011;4:1816–1824
140. Wolters T, Vissers KJ, Bangma CH, et al The value of EZH2, p27(kip1), BMI-1 and MIB-1 on biopsy specimens with low-risk prostate cancer in selecting men with significant prostate cancer at prostatectomy. *BJU Int* 2010;106:280–286.
141. Balasubramanian S, Lee K, Adhikary G, et al The Bmi-1 polycomb group gene in skin cancer: regulation of function by (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Nutr Rev* 2008;66(Suppl 1):S65–S68
142. Tan JZ, Yan Y, Wang XX, et al. EZH2: biology, disease, and structure-based drug discovery. *Acta Pharmacol Sin* 2014;35:161–174.
143. Simon JA, Lange CA Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. *Mutat Res* 2008;647:21–29.
144. Yan-Long Liu, Xu Gao, Yang Jiang, et al. Expression and clinicopathological significance of EED, SUZ12 and EZH2 mRNA in colorectal cancer *J Cancer Res Clin Oncol* (2015) 141:661–669
145. Yu H, Simons DL, Segall I, et al. PRC2/EED-EZH2 complex is up-regulated in breast cancer lymph node metastasis compared to primary tumor and correlates with tumor proliferation in situ. *PLoS One* 2012; 7: e51239.
146. Geom Seog Seo, Ji-In Yu, Soo-Cheon Chae, et al. EED gene polymorphism in patients with colorectal cancer *Int J Biol Markers* 2013; 28 (3): 274-279
147. Esra GÜNDÜZ, Gökhan NAS, Muradiye ACAR, et al. Loss of heterozygosity in ING3 and ING5 genes in breast cancer *Turk J Biol* (2014) 38: 898-905
148. Gunduz M, Demircan K, Gunduz E, et al. Inhibitor of Growth (ING) family: a emerging molecular target for cancer therapy. *J Hard Tissue Biol* 2008;17:1-10.

149. Cengiz B, Gündüz E, Gündüz M, et al. Tumorspecific mutation and downregulation of ING5 detected in oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2010;127: 2088–2094
150. Li X, Nishida T, Noguchi A, et al. Decreased nuclear expression and increased cytoplasmic expression of ING5 may be linked to tumorigenesis and progression in human head and neck squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136: 1573–1583.
151. Zheng HC, Xia P, Xu XY, et al. The nuclear to cytoplasmic shift of ING5 protein during colorectal carcinogenesis with their distinct links to pathologic behaviors of carcinomas. *Hum Pathol* 2011; 42: 424–433.
152. Xing YN, Yang X, Xu XY, et al. The altered expression of ING5 protein is involved in gastric carcinogenesis and subsequent progression. *Hum Pathol* 2011; 42: 25–35.
153. Yang XJ, Seto E. HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. *Oncogene* 2007;26:5310–18.
154. Ito T. Role of histone modification in chromatin dynamics. *J Biochem* 2007;141:609–14.
155. Toh Y, Pencil SD and Nicolson GL: A novel candidate metastasis-associated gene, mta1, differentially expressed in highly metastatic mammary adenocarcinoma cell lines. cDNA cloning, expression, and protein analyses. *J Biol Chem*, 1994.;269(37):22958-22963
156. Denslow, S. A, Wade, P. A. The human Mi-2/NuRD complex and gene regulation. *Oncogene*, 2007;26(37), 5433–5438.
157. Marzook H, Deivendran S, Kumar R, Pillai MR. Role of MTA1 in head and neck cancers. *Cancer Metastasis Rev.* 2014;33(4):953–964.
158. Pakala SB, Rayala SK, Wang RA, et al. MTA1 promotes STAT3 transcription and pulmonary metastasis in breast cancer. *Cancer Res.* 2013; 73(12):3761–3770
159. Yang QY, Li JH, Wang QY, et al. MTA1 promotes cell proliferation via DNA damage repair in epithelial ovarian cancer. *Genet Mol Res.* 2014;13(4):10269–10278.
160. Liu J, Xu D, Wang H, et al. The subcellular distribution and function of MTA1 in cancer differentiation. *Oncotarget.* 2014;5(13):5153–5164.
161. Kai L, Wang J, Ivanovic M, et al. Targeting prostate cancer angiogenesis through metastasis-associated protein 1 (MTA1). *Prostate.* 2011;71(3):268–280.

162. Salot S, Gude R. MTA1-mediated transcriptional repression of SMAD7 in breast cancer cell lines. *Eur J Cancer*. 2013;49(2):492–499.
163. Song Q, Zhang H, Wang M, et al. MTA1 promotes nasopharyngeal carcinoma growth in vitro and in vivo. *J Exp Clin Cancer Res*. 2013;32(1):54.
164. Jiang Q, Zhang H, Zhang P. ShRNA-mediated gene silencing of MTA1 influenced on protein expression of ER alpha, MMP-9, Cyclin D1 and invasiveness, proliferation in breast cancer cell lines MDA-MB-231 and MCF-7 in vitro. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011;30:60.
165. Yao Y, Feng S, Xiao M, et al. MTA1 promotes proliferation and invasion in human gastric cancer cells *Onco Targets Ther*, 20 (8) (2015), pp. 1785–1794
166. Toh Y, Oki E, Oda S, et al. *Int J Cancer*. Overexpression of the MTA1 gene in gastrointestinal carcinomas: correlation with invasion and metastasis 1997 Aug 22;74(4):459-63.
167. Grooteclaes M, Deveraux Q, Hildebrand J, et al. C-terminal-binding protein corepresses epithelial and proapoptotic gene expression programs. *Proc Natl Acad Sci USA* 100,2013; 4568–4573
168. Chinnadurai G. CtBP, an unconventional transcriptional corepressor in development and oncogenesis. *Mol Cell* 2002; 9, 213–224.
169. Kumar V, Carlson JE, Ohgi KA, et al. Transcription corepressor CtBP is an NAD⁺-regulated dehydrogenase. *Mol Cell* 2002;10, 857–869.
170. Koipally J and Georgopoulos K. Ikaros interactions with CtBP reveal a repression mechanism that is independent of histone deacetylase activity. *J Biol Chem* 2000;275, 19594–19602.
171. Sewalt RG, Gunster MJ, van der Vlag J, et al. C-terminal binding protein is a transcriptional repressor that interacts with a specific class of vertebrate polycomb proteins. *Mol Cell Biol* 1999;19, 777–787.
172. Chinnadurai G. CtBP, an unconventional transcriptional corepressor in development and oncogenesis. *Mol Cell* 2002; 9, 213–224.
173. Palmer S, Brouillet JP, Kilbey A, et al. Evi-1 transforming and repressor activities are mediated by CtBP co-repressor proteins. *J Biol Chem* 2001; 276, 25834–25840.
174. Bergman LM, Birts CN, Darley M, et al. CtBPs promote cell survival through the maintenance of mitotic fidelity. *Mol Cell Biol* 2009 Aug;29(16):4539-51
175. Wang R, Asangani IA, Chakravarthi BV, et al. Role of transcriptional corepressor CtBP1 in prostate cancer progression. *Neoplasia* 2012;14:905–14.

176. Deng et al., 2012Y. Deng, H. Deng, J. Liu, et al. Transcriptional down-regulation of Brca1 and E-cadherin by CtBP1 in breast cancer Mol Carcinog, 51 (2012), pp. 500–507
177. Winklmeier A, Poser I, Hoek KS, et al. Loss of full length CtBP1 expression enhances the invasive potential of human melanoma.BMC Cancer 2009;9(1):52
- 178.BIZAMA C, Benavente F, Salvatierra E, et al The low-abundance transcriptome reveals novel biomarkers, specific intracellular pathways and targetable genes associated with advanced gastric cancer. Int J Cancer. 2013 Aug134:755–764
179. Wilson BG, Roberts CW. SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer. Nat Rev Cancer 2011; 11: 481-492
180. Biegel JA, Fogelgren B, Zhou JY, et alMutations of the INI1 rhabdoid tumor suppressor gene in medulloblastomas and primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system. Clin Cancer Res2000; 6:2759–2763.
181. Biegel JA, Kalpana G, Knudsen ES, et al. The role of INI1 and the SWI/SNF complex in the development of rhabdoid tumors:meeting summary from the workshop on childhood atypical teratoid/rhabdoid tumors. Cancer Res 2002; 62: 323–328
182. Nagl NG, Jr., Patsialou A, Haines DS, et alThe p270 (ARID1A/SMARCF1) subunit of mammalian SWI/SNF-related complexes is essential for normal cell cycle arrest. Cancer Res 2005; 65: 9236–9244
183. Luo B, Cheung HW, Subramanian A, et al.Highly parallel identification of essential genes in cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105: 20380–20385
184. Wang DD, Chen YB, Pan K, et al. Decreased expression of the ARID1A gene is associated with poor prognosis in primary gastric cancer. PLoS One. 2012;7:e40364.
- 185.Guan B, Mao TL, Panuganti PK, et al. Mutation and loss of expression of ARID1A in uterine low-grade endometrioid carcinoma. Am J Surg Pathol 2011;35: 625–632.
186. Wang K, Kan J, Yuen ST, et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer.Nat Genet 2011;43: 1219–1223.
- 187.Zang ZJ, Cutcutache I, Poon SLet al. Exomesequencing of gastric adenocarcinoma identifies recurrent somatic mutations in cell adhesion and chromatin remodeling genes. Nat Genet 2012; 44: 570–574
188. Zhu H,Li X,Zhang X,et al. Polymorphisms in mismatch repair genes are associated with risk and microsatellite instability of gastric cancer, and interact with life exposures.Gene. 2016 Mar 15;579(1):52-7

189. Figura N, Marano L, Moretti E et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma: Not all the strains and patients are alike. *World J Gastrointest Oncol*. 2016 Jan 15;8(1):40-54.

190. Kim YB, Lee SY, Kim JH, et al. Microsatellite Instability of Gastric and Colorectal Cancers as a Predictor of Synchronous Gastric or Colorectal Neoplasms. *Gut Liver*. 2015 Jun 19

191. Kim KJ, Jung HY, Oh MH et al. Loss of ARID1A Expression in Gastric Cancer: Correlation with Mismatch Repair Deficiency and Clinicopathologic Features. *J Gastric Cancer*. 2015 Sep;15(3):201-8.