

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

**MİDE KANSERLERİNDE TANI VE TEDAVİYE
YÖNELİK İŞARETÇİLERİN İN SİLİCO
YÖNTEMLERLE TESBİTİ**

**DR. RAUF MEHTİYEV
UZMANLIK TEZİ**

İZMİR-2022

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

**MİDE KANSERLERİNDE TANI VE TEDAVİYE
YÖNELİK İŞARETÇİLERİN İN SİLİCO
YÖNTEMLERLE TESBİTİ**

DR. RAUF MEHTİYEV
UZMANLIK TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi:
Prof. Dr. ENDER BERAT ELLİDOKUZ

İÇİNDEKİLER:

TABLO LİSTESİ	II
ŞEKİL LİSTESİ	III
KISALTMALAR.....	IV
TEŞEKKÜR.....	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	33
BULGULAR	36
TARTIŞMA	63
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
KAYNAKLAR.....	69

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Lauren sınıflanmasına göre intestinal ve difüz tip adenokarsinomun özellikleri

Tablo 2: Bu çalışmada kullanılan veri kümelerinin özellikleri gösterilmiştir

Tablo 3: Bu çalışmada kullanılan veri kümelerinin özellikleri gösterilmiştir

Tablo 4A: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Yukarı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

Tablo 4B: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Yukarı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

Tablo 4C: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Yukarı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

Tablo 5A: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Aşağı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

Tablo 5B: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Aşağı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

Tablo 5C: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Aşağı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

Tablo 6: Log FC >2 olan yukarı-regüle 16 DEG

Tablo 7: Log FC <2 olan aşağı-regüle 67 DEG

Tablo 8: KEGG yolağı analiz sonucu

Tablo 9A, 9B, 9C, 9D, 9E: GO analiz sonucu elde edilen veriler

Tablo 10: Hallmark yolağı analiz sonucu elde edilen veriler.

Tablo 11A, 11B, 11C, 11D: Metabolit yolağı analiz sonucu elde edilen veriler.

Tablo 12: STRING' de verinin işlenmesi, Birleşme puanı> 0.4 (16 yukarı-regüle ve 67 aşağı-regüle DEG etkileşimi)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. 2020 yılında dünyada cinsiyet ayrımı yapılmadan ilk 10 kanser türleri için yeni vaka ve ölümlerin oranı

Şekil 2. Mide kanseri risk faktörleri arasında ilişki (%95güven aralığı). Koruyucu faktörler yeşil (koyu yeşil anlamlı, açık yeşil anlamsız) ve risk faktörleri kırmızı (koyu kırmızı anlamlı, açık kırmızı anlamsız) gösterilmiştir

Şekil 3. Mide kanserinin yaş grubuna göre prevalansı

Şekil 4: Mide poliplerinin mukozal kompartmanlarına göre sınıflandırılması

Şekil 5: Makroskopik olarak ileri mide kanseri türleri

Şekil 6: TCGA mide kanseri hastalarında moleküler sınıflama

Şekil 7: NBI ile WLE' in kıyaslanması

Şekil 8: AJCC 7. ve 8. sürümler, pTNM karşılaştırılması

Şekil 9: EGC morfolojik sınıflanması

Şekil 10: Perioperatif ve adjuvant tedavi algoritması

Şekil 11: Lokal ileri, rekürrens veya metastatik mide kanserinde birinci basamak sistemik tedavi

Şekil 12: Lokal ileri, rekürrens veya metastatik mide kanserinde ikinci basamak sistemik tedavi

Şekil 13: Mide kanserinde sinyal yolu ve hedefe yönelik tedaviler

Şekil 14: Volcano plot kullanılarak yukarı-regüle (Log FC >2) ve aşağı regüle (log FC <2) DEG görselleştirildi

Şekil 15: KEGG yolağında term-gen etkileşim grafiği

Şekil 16: GO yolağında term-gen etkileşim grafiği

Şekil 17: Hallmark yolağında term-gen etkileşim grafiği

Şekil 18: Metabolit yolağında term-gen etkileşim grafiği

Şekil 19: STRING' de 83 DEG (16 yukarı-regüle (log FC> 2) ve 67 aşağı-regüle (log FC <2)) arasında etkileşim

Şekil 20: DEG'lerin PPI ağı Cytoscape kullanılarak oluşturuldu. Kırmızı düğümler yukarı-regüle genleri ve mavi genler aşağı-regüle genleri temsil eder.

KISALTMALAR

GLOBOCAN:	Global Cancer Organization
GC:	Mide kanseri
H.P:	Helikobakter pylori
EBV:	Epstein-Barr virüsü
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
IARC:	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
AG:	Atrofik gastrit
Cag A:	Sitotoksin ile ilişkili gen A
Vag A:	Vakuolasyon sitotoksin A
DMP:	Dış membran proteini
IM:	İntestinal metaplazi
WCRF:	Dünya Kanser Araştırma Fonu
AICR:	Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü
BMI:	Body Mass Index
RGC:	Remnant gastric cancer
OLGA:	Gastrit Değerlendirilme sistemi ile ilgili Operatif bağlantı
PPI:	Proton Pompa İnhibitör
EGD:	Özofagogastroduodenoskopi
WLE:	Beyaz ışık endoskopisi
EUS:	Endoskopik ultrason
BT:	Bilgisayarlı Tomografi
PET:	Pozitron Emisyon Tomografi
FDG:	18F-florodeoksiglukoz
NCCN:	Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı
TNM:	Tömür-Lenf nodu-Metastaz
AJCC:	Amerikan Kanser Ortak Komitesi
AFP:	Alfa-fetoprotein
FDA:	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
IHC:	İmmünohistokimya
HIS:	İn situ hibridizasyon
OS:	Genel sağkalım
PFS:	Progresyonsuz sağkalım

ORR:	Genel yanıt oranı
DEG:	Diferansiyel ekspresyon gen
PPI:	Protein-protein etkileşimi
CPS:	Birleşik pozitiflik skoru
PD-1:	Programlanmış hücre ölüm proteini 1
PD-L1:	Programlanmış hücre ölüm ligandı 1
ABD FDA:	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
TKI:	Tirozin kinaz inhibitörü
EGFR:	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
FGFR:	Fibroblast büyüme faktörü reseptörü
GLI:	Glioma ile ilişkili onkogen ailesi çinko parmak 1
HDAC:	Histon deasetilaz
HER:	İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü
HGF:	Hepatosit büyüme faktörü
Hh:	Kirpi
IGFR:	İnsulin benzeri büyüme faktörü reseptörü
MMP:	Matriks metalloproteinaz
mTOR:	Rapamisin'in memeli hedefi
PDGFR:	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü
Ptch-1:	Protein yamalı homolog 1
Smo:	Yumuşatılmış
VEGF:	Vasküler endotelial büyüme faktörü
VEGFR:	Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü

TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalışmamın planlanması, oluşturulması, geliştirmesi ve gerçekleştirilmesinde bilgi, öneri, destek ve emeği olan sayın hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ender Berat ELLİDOKUZ' a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında emeği geçen Dokuz Eylül Üniversitesi Translasyonel Onkoloji Anabilim Dalından Doç. Dr. Gizem Çalıbaşı Koçal, Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalından Doç. Dr. Zerrin Işık hocalarıma ve Translasyonel Onkoloji Programı doktora öğrencisi Asım LEBLEBİCİ arkadaşşıma teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda yol gösteren, engin bilgi ve tecrübeleri ile eğitimimde büyük katkı ve üzerimde büyük emeği olan birlikte çalışmaktan onur duyduğum çok değerli hocalarıma teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Uzmanlık hayatım boyunca benden yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen, kliniğimizin tüm uzman hekimlerine;

Birlikte çalışmış olmaktan mutlu olduğum ve bu zorlu süreçte aynı yolda yürüdüğüm çok değerli tüm asistan doktor arkadaşlarıma;

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum, hastaların her türlü sorunlarıyla ilgilenen sevgili intörn doktor arkadaşlarıma, hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma;

Desteklerini ve dualarını hiçbir zaman esirgemeyen, emeklerinin karşılığını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili annem Sevil ASGEROVA' ya ve babam Memmedrza MEHTİYEV' e;

Sevgi ve desteğini hep hissettiğim kardeşim Fuad MEHTİYEV' e;

Yoğun çalışma süresince bana her konuda destek olan, aynı zamanda hep yanımda hissettiğim ve hayatıma kattıkları güzellikler için eşim Dr. Nermin HÜSEYNOVA' ya ve biricik oğlum Kerim MEHTİYEV' e;

Kısacası emeği geçen herkese teşekkürlerimi, sevgilerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Rauf MEHTİYEV

Eylül 2022

ÖZET

MİDE KANSERLERİNDE TANI VE TEDAVİYE YÖNELİK İŞARETÇİLERİN İN SİLİCO YÖNTEMLERLE TESBİTİ

Dr. Rauf MEHTİYEV

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Gastroenteroloji Bilim Dalı 35340İnciraltı/ İZMİR

Amaç-hipotez: Mide kanseri (GC), dünyada kansere bağlı ölümlerin dördüncü en sık nedenidir. Dünyada önemli bir sağlık yükü oluşturmaktadır. GC hastalarının birçoğu tanı anında mide kanserinin ileri evrelerinde yer almakta ve en iyi tedavi fırsatını kaçırmaktadır. Bu çalışmada GC' nin moleküler mekanizmalarını ortaya çıkarmayı ve GC prognozu, erken tanı ve hedefe yönelik tedavi için spesifik biyobelirteçlerin tanımlanmasını amaçladık.

Gereç-yöntem: 10 mRNA veri kümesi (GSE79973, GSE34942, GSE38749, GSE35809, GSE22377, GSE66222, GSE54129, GSE42252, GSE19826 ve GSE13911) Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanından seçilmiştir. Veri kümesi 177 normal mide doku örneği ve 360 mide adenokanseri örneği içermekte olup, toplam örnek sayısı 537'dir. Diferansiyel olarak eksprese edilen genler (DEG' ler) R yazılımı tarafından seçildi. R yazılımı ve Volkan grafiği, farklı şekilde ifade edilen genleri (DEG' ler) ayırt etmek için kullanıldı. Daha sonra gen ontolojisi (GO) analizi ve Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi (KEGG) yol analizi gerçekleştirdik. STRING ve Cytoscape yazılımı, 10 veri kümesi arasında ortak olan DEG' lerin protein-protein etkileşimi (PPI) ağlarını analiz etmek için de kullanıldı.

Bulgular: 10 mRNA veri kümesinden 260 yukarı regüle ve 260 aşağı regüle gen dahil olmak üzere toplam 520 DEG tanımlanmıştır. R yazılımı ve Volkan grafiği ile 520 DEG içerisinden log FC>2 olan DEG' ler tespit edildi. KEGG analizi, yukarı-regüle DEG' lerin esas olarak Protein sindirimi ve emilimi, ECM-reseptör etkileşimi, İlaç metabolizması, IL-17 sinyal yolu, Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi ve Amoebiasis yollarında zenginleştirildiğini göstermiştir. GO analizi, yukarı-regüle DEG' lerin esas olarak hücre dışı matris organizasyonu, hücre dışı yapı organizasyonu, dış kapsülleyici yapı organizasyonu ve hücre popülasyonu proliferasyonunun düzenlenmesi, kolajen fibril organizasyonu ve mitotik kardeş kromatit yollarında zenginleştirildiğini göstermiştir. 16 yukarı-regüle (log FC> 2) ve 67 aşağı-regüle

(log FC <2) olan toplamda 83 DEG arasındaki protein etkileşimi tahmin ve analiz etmek için STRING veri tabanı ve Cytoscape yazılımı kullanıldı. STRING ve Cytoscape analiz sonuçlarını birleştirilerek 10 DEG (INHBA, SULF1, COL1A2, CTHRC1, THBS2, COL1A1, COL11A1, SFRP4, FN1, COL10A1) seçtik. Bunlar genler yukarı-regüle olup, yüksek derece bağlantıya sahip, log FC>2 ve en yüksek FcS olan DEG 'lerdir.

Sonuçlar: Bu çalışma, biyoinformatik analiz yöntemlerini kullanarak INHBA, SULF1, COL1A2, CTHRC1, THBS2, COL1A1, COL11A1, SFRP4, FN1, COL10A1 dahil olmak üzere 10 DEG, mide kanseri hastalarında anlamlı derecede yüksek oranda eksprese edildi. Çalışmamız bu 10 DEG' in GC için potansiyel biyobelirteçler ve terapötik hedefler olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Mide kanseri (GC), biyoinformatik analiz, gen ekspresyonu omnibus (GEO), diferansiyel eksprese genler (DEG' ler)

ABSTRACT

DETERMINATION OF POINTS FOR DIAGNOSIS AND TREATMENT IN GASTRIC CANCERS BY IN SILICO METHODS

Dr. Rauf MEHTİYEV

Dokuz Eylul University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine

Department of Gastroenterology 35340 İnciraltı/ İZMİR

Purpose and hypothesis: Gastric cancer (GC) is the fourth most common cause of cancer-related death in the world. Gastric cancer constitutes a significant health burden in the world. Many GC patients are in advanced stages of gastric cancer at the time of diagnosis and miss the opportunity for the best treatment. In this study, we aimed to reveal the molecular mechanisms of GC and to identify specific biomarkers for GC prognosis, early diagnosis and targeted therapy.

Material-method: 10 mRNA datasets (GSE79973, GSE34942, GSE38749, GSE35809, GSE22377, GSE66222, GSE54129, GSE42252, GSE19826 and GSE13911) were selected from the Gene Expression Omnibus (GEO) database. The dataset includes 177 normal gastric tissue samples and 360 gastric adenocarcinoma samples, with a total sample number of 537. Differentially expressed genes (DEGs) were selected by the R software. R software and Volcano plot were used to distinguish differentially expressed genes (DEGs). We then performed gene ontology (GO) analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis. STRING and Cytoscape software were also used to analyze protein-protein interaction (PPI) networks of DEGs common among the 10 datasets.

Results: A total of 520 DEGs were identified, including 260 up-regulated and 260 down-regulated genes from 10 mRNA datasets. DEGs with $\log FC > 2$ were detected out of 520 DEGs with R software and Volcan graph. KEGG analysis showed that up-regulated DEGs are mainly enriched in Protein digestion and absorption, ECM-receptor interaction, Drug metabolism, IL-17 signaling pathway, Cytokine-cytokine receptor interaction, and Amoebiasis pathways. GO analysis showed that up-regulated DEGs are mainly enriched in extracellular matrix organization, extracellular structure organization, external encapsulating structure organization

and regulation of cell population proliferation, collagen fibril organization, and mitotic sister chromatid pathways. The STRING database and Cytoscape software were used to predict and analyze protein interactions between a total of 83 DEGs, 16 up-regulated ($\log FC > 2$) and 67 down-regulated ($\log FC < -2$). We selected 10 DEGs (INHBA, SULF1, COL1A2, CTHRC1, THBS2, COL1A1, COL11A1, SFRP4, FN1, COL10A1) by combining the STRING and Cytoscape analysis results. These genes are up-regulated DEGs with high degree of connectivity, $\log FC > 2$ and highest FcS.

Conclusion: Using bioinformatics analysis methods in this study, 10 DEGs, including INHBA, SULF1, COL1A2, CTHRC1, THBS2, COL1A1, COL11A1, SFRP4, FN1, COL10A1, were significantly highly expressed in gastric cancer patients. Our study suggests that these 10 DEGs may be potential biomarkers and therapeutic targets for GC.

Key words: Gastric cancer (GC), bioinformatics analysis, omnibus gene expression (GEO), differentially expressed genes (DEGs)

1.GİRİŞ VE AMAC

Mide kanseri tüm dünyada kansere bağılı ölümlerin en yaygın nedenleri arasındadır(1). Mide kanseri tüm dünyada kanser vakaları içerisinde beşinci sırada olup, kansere bağılı ölümlerde ise dördüncü sırada yerleşmektedir(2). Bu nedenle erken tanı ve teşhis etmek oldukça önemlidir. Çünkü erken evre mide kanseri 5 yıllık sağ kalım oranı %90 üzerinde olmasına rağmen, ileri evre mide kanseri 5 yıllık sağ kalım oranı %10 civarındadır (3,4). Mide kanserinin cinsiyete göre görülme oranı erkeklerde kadınlara göre 2-3 kat fazla görünmektedir (5).

Mide kanserinin gelişiminde farklı çevresel ve genetik faktörler rol oynamaktadır (6). Mide kanserinin gelişiminde rol alan en önemli risk faktörü H.pylori enfeksiyonu (7) olup, bunun yanında ileri yaş(8), erkek cinsiyet(9), Epstein-Barr virüsü (EBV), sigara ve alkol tüketimi, aile öyküsü gibi risk faktörlerde yer almaktadır(10).

Üst gastrointestinal endoskopik yöntem mide kanserinin tanısında altın standarttır(11). Özofagogastroduodenoskopi (ESD) ve biyopsi mide kanserinde tanı için kullanılan birincil yöntemdir(12).

Mide kanserinin kötü klinik sonuçlarından geç tanı alması, tedavilere yanıtın az ve ya zayıf olması, hastalığın multifaktöriyel veya heterojen yapısı sorumludur (13). Bu yüzden güncel yeni hedeflerin çoğu ya mide kanserini erken evrede teşhis etmeye, ya da mide kanserini ileri evrede tedavi etmeğe yönelmektedir. Bu stratejilerde biyobelirteçler önemli yer tutmaktadır. Kanser biyobelirteçleri ya tümör hücrelerinden salgılanan çözünür moleküller olabilir ya da normal hücrelerden salgılanan çözünür ve ya hücreye bağılı moleküller olabilir(14).

Son dönemlerde mide kanserinin erken teşhis edilmesi için moleküler biyobelirteçlerin geliştirilmesinde bazı ilerlemeler mevcuttur. Buna rağmen, mide kanseri erken tanısı için kullanılacak yararlı biyobelirteçler sınırlıdır(12). Aynı zamanda, mide kanserinin erken evrelerinde özgüllük ve duyarlılık oranları düşük oldukları nedeni ile bu biyobelirteçlerin çoğu mide kanserinin tespiti için önerilmez. Bu yüzden, mide kanserinin erken tanısı veya ileri evre mide kanseri tedavisi için ek moleküler biyobelirteçlerin tanımlanması önemlidir(15).

Geçtiğimiz on yıllar boyunca, yüksek verimli dizileme, büyük ölçekli biyolojik veriler üreterek kansere yönelik biyobelirteçleri keşfetmek için etkili bir araç olmuştur(16). Biyoinformatik analiz yoluyla AFP,EGFR ve HER2 gibi bir çok biyobelirteçler keşfedilmiştir(17–19).

Biz bu çalışmada mide kanserlerinde tanı ve tedaviye yönelik işaretçilerin in silico yöntemlerle tespit etmeği amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

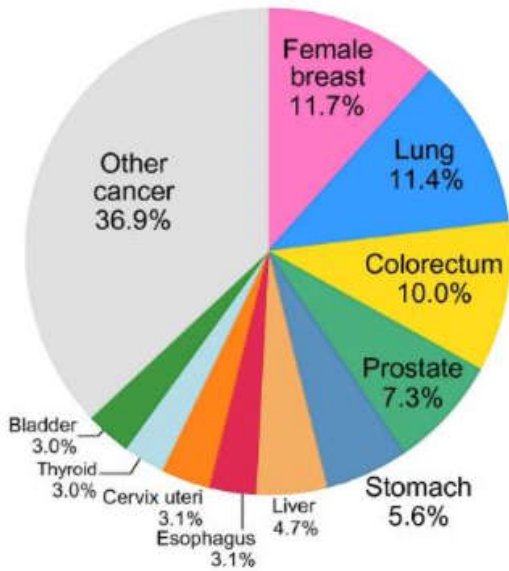
2.1. MİDE KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ

Mide kanseri kanserler içerisinde dünyada beşinci sırada olup, kansere bağlı ölümler içerisinde mide kanseri (%7.7) dördüncü sıradadır (şekil 1) (2). Tüm dünyada her yıl yeni tanı almış mide kanserlerinin büyük çoğunluğu Asya ve Güney Amerika ülkelerinde tespit edilmektedir (20). Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ülkeleri ve Afrika bölgesi mide kanseri açısından düşük insidansa sahiptir (9).

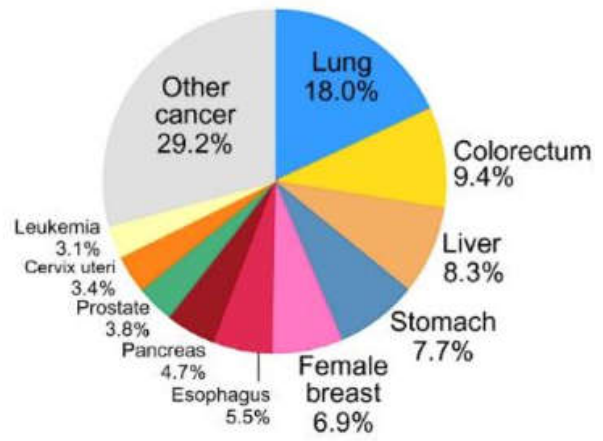
Kadınlar ve erkekler arasında mide kanseri oranları farklıdır. Bu fark erkeklerde kadınlara göre 2-3 kat fazladır (5).

Mide kanserinin bilinen en önemli risk faktörü H.pylori enfeksiyonudur(7). Tüm dünyada H.pylori enfeksiyonu tedavi ve önlenmesi ile gıda koruması ve diyetteki değişiklikler nedeni ile son 50 yılda mide kanseri insidansında azalma görülmüştür(20).

Son yıllarda mide kanserinde mortalite oranı azalmıştır. Bu azalmanın sebebi erken tanı alması, kemoterapi ve hedefe yönelik tedavilerdeki başarılarından kaynaklanmaktadır. Buna rağmen mide kanserlerinde genel sağkalım düşüktür, metastatik hastalıkta 5 yıllık sağkalım %6'dır.Bunun başlıca nedeni mide kanserini ileri ve rezektabl olmayan bir evrede saptanmasıdır(21) .



19,3 milyon yeni vaka



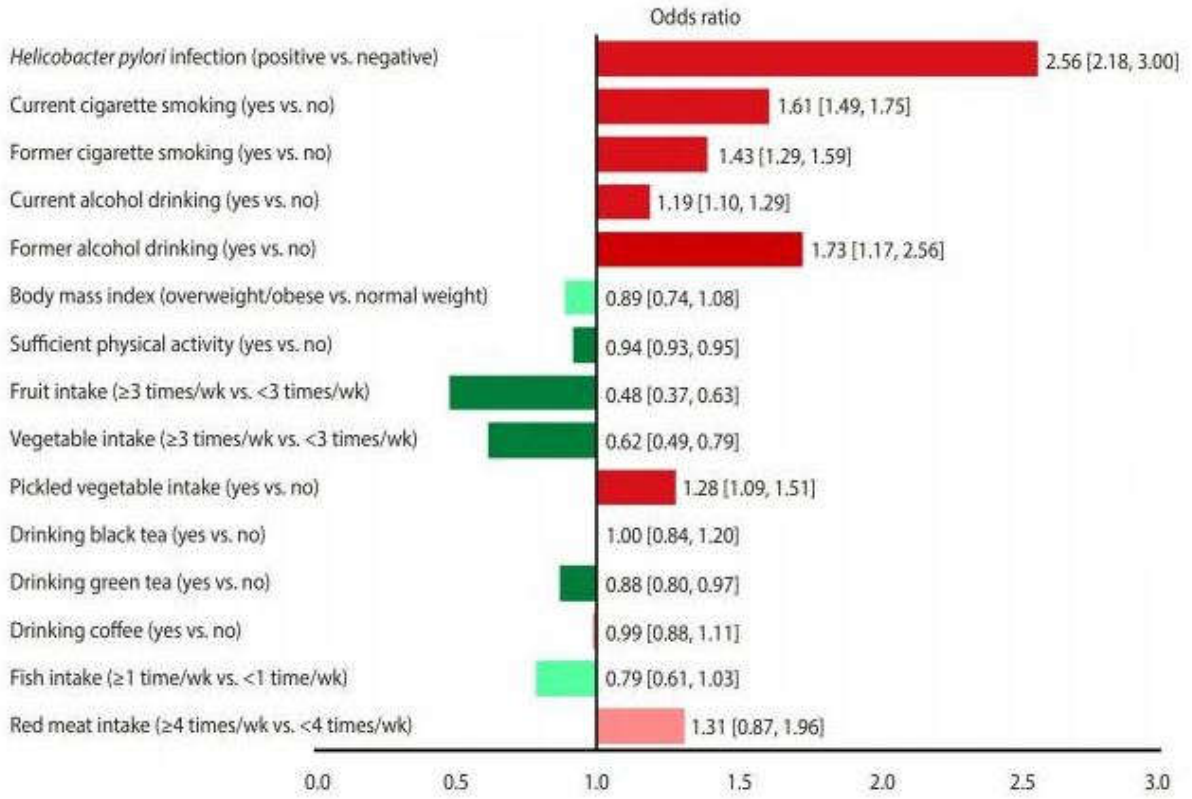
9,9 milyon ölüm

Şekil 1: 2020 yılında dünyada cinsiyet ayrımı yapılmadan ilk 10 kanser türleri için yeni vaka ve ölümlerin oranı (2).

2.2.MİDE KANSERİ ETİOLOJİ

Mide kanseri multifaktöriyel bir hastalık olup, gelişiminde bir çok çevresel ve genetik faktörler yer almaktadır(6). Mide kanseri başlıca nedeni H.pylori ile kronik enfeksiyon olup, tüm dünyada mide kanseri vakalarının tahminen %89'unu oluşturmaktadır (22–24). Mide kanseri gelişiminde ileri yaş (8), erkek cinsiyet (9) Epstein-Barr virüsü (EBV), sigara ve alkol tüketimi, beslenme alışkanlıkları, aile öyküsü gibi bir çok risk faktörleri rol oynamaktadır (10).

Mide kanseri risk faktörleri arasında genel bir fikir sunar (Sekil 2). H.pylori enfeksiyonu, eski ve mevcut alkol ve sigara içme, salamura sebze tüketimi mide kanseri riskini önemli derecede artırdığı saptanmıştır. Bunun aksine, meyve ve sebze tüketimi ve yeterli fiziksel aktivite mide kanseri riskini önemli derecede azaltmaktadır (25).



Şekil 2: Mide kanseri risk faktörleri arasında ilişki (%95 güven aralığı). Koruyucu faktörler yeşil (koyu yeşil anlamlı, açık yeşil anlamsız) ve risk faktörleri kırmızı (koyu kırmızı anlamlı, açık kırmızı anlamsız) gösterilmiştir (25).

2.2.1.ÇEVRESEL FAKTÖRLER

Helikobakter pylori

Çalışmalarda bazı bakterilerin kanser gelişiminde rol oynadıklarını göstermişlerdir(26). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından H.pylori karsinojen olarak sınıflandırılmıştır(27).Mide kanserlerinin %75'ine H.pylori enfeksiyonu sebep olmaktadır(28). Gelişmekte olan ülkelerde insanların %70 ile %90'ı 10 yaşından önce H.pylori enfeksiyonu taşımaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise H.pylori enfeksiyonu prevalansı %25 ile %50 arasında değişmektedir(29).

H.Pylori için tek doğal rezervuar insan midesidir (30). H.pylori oral-oral ve fekal-oral yoldan insandan insana bulaşmaktadır (31). H.pylori serolojik test, hızlı üreaz testi, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve mide biyopsi örneklerinin histolojik inceleme yöntemleri ile teşhis edilebilmektedir (32).

H.pylori ile enfekte kişilerin %2 ile %3'ünde mide kanseri ve %0.1 kişilerde ise mukoza ile ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoma gelişmektedir (33,34).Mide kanseri gelişimine neden olan H.pylori virülans faktörleri sitotoksin ile ilişkili gen A (Cag A) vakuolasyon sitotoksin A (Vag A) ve dış membran proteinleridir (DMP) (35). Cag A, Vag A ve DMP' leri hücresel proliferasyon sinyal yollarını aktive eder. H.pylori midede kronik enflamasyon başlatarak hidroklorik asit salgılayan bezleri yok eder. Bunu takiben atrofik gastrit ve ya diğer prekanseröz değişikliklere yol açmaktadır (36–38).

H.pylori enfeksiyonu asemptomatik olsa bile , mide kanseri gelişimine yol açar. Bu nedenle insanlar H.pylori enfeksiyonuna karşı taranması ve tedavi edilmesi önerilir(39).

Epistein-Barr virusu

EBV enfeksiyonu ile mide kanseri tüm dünyada toplam mide kanseri vakalarının yaklaşık %10 oluşturmaktadır (40–42). Mide kanseri dışında EBV enfeksiyonu Hodgkin lenfoma, Burkitt lenfoma ve nazofaringeal karsinoma gelişiminde de rol oynamaktadır (41,43). Mide epitel hücrelerine EBV invazyon mekanizması hala tam aydınlatılamamıştır (44). EBV orofarenksten epitel hücrelerine girer ve daha sonra B lenfositleri enfekte ederek lenfoid dokulara yayılır(45). EBV enfeksiyonun re aktivasyonu sonucunda virüs enfekte B lenfositlerden mide epitel hücrelerine geçebilir (46). Bununla birlikte , EBV gHgL viral proteini ile integrinler arasında kompleks oluşturarak virüsün konakçı hücre ile birleşmesine neden olduğu tahmin edilmektedir(47).

Diyet

Dünya Kanser Araştırma Fonu / Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (WCRF/AICR) tuzu mide kanseri risk faktörleri arasına eklemiştir. Yüksek tuz alımı gastrik mukozayı uyarak atrofik gastrit, DNA sentezinin artmasına ve hücre proliferasyonuna neden olup, mide kanserine yol açabileceği gösterilmiştir (48).

Mide kanseri ile beslenme arasındaki bir çok yapılan çalışmada yüksek tuz tüketimi, nitrat ve işlenmiş et bakımından zengin diyet mide kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir(48–52).Mide kanseri riskini yüksek tuz alımı %22 artırmaktadır (53).Bir Asya çalışmasında yüksek tuz alımı ile atrofik gastrit ve intestinal metaplazi (IM) riskinin arttığını göstermiştir(54).Benzer Avrupa çalışmasında H.pylori enfeksiyonu olan hastalarda diyetle yüksek tuz alımı mide kanseri riskinde sinerjik etki yaptığı gösterilmiştir(55).Kırmızı ve işlenmiş, kızartılmış , fırınlanmış et tüketimi mide kanseri riskini artırmakta olup, beyaz et tüketimi koruyucu etkiye sahiptir (56).Mide kanser riskini yüksek miktarda taze sebze ve meyve tüketimi azaltmakta olup, nitrit ,tuz ve N-nitroza bileşikler bakımından zengin, tuzlu, füme , salamura edilmiş ve korunmuş gıdalar mide kanser riskini artırmaktadır (57,58). Genlerdeki polimorfizmler DNA sentezi ve onarımı, tümör baskılanması, kanserojen metabolizması gibi bir çok yollardaki enzim aktivitesinde değişiklikler yaratarak mide kanseri riskini artırmaktadır(59).

Sigara ve alkol

Sigara IACR tarafından mide kanseri risk faktörlerinden biri olduğu bildirilmiştir (60).Sigara içen kişilerde içmeyenlere kıyasla mide kanseri gelişim riskinin yaklaşık %80'dir (61).

Alkolün mide kanseri gelişimine neden olan diğer bir risk faktörü olduğu 7 farklı çalışmada gösterilmiştir(48,62–67).Günde 50 g üzerinde alkol tüketen kişilerde alkol tüketmeyen kişilere kıyasla mide kanser gelişme riski %24'dür(68). Alkolün etanol metabolitlerinin ve aynı zamanda nitrozaminlerin alımının artması mideye toksik etki yaparak, kronik enflamasyon yaratır. Bunun sonucunda mide kanseri için zemin oluşturur(69).

Obezite

Obezite dünyada büyüyen bir sorun olmakla beraber bir sıra hastalıklar ve mide kardiy kanseri ile ilişkisi gösterilmiştir. BMI 25'in altında olan kişilere kıyasla BMI 30-35 olan kişilerde mide kanseri riski 2 kat fazla görülmektedir .BMI 40'ın üzerinde olan bireylerde

ise mide kanseri 3 kat fazla görülmektedir(70).Obezite kardiya dışı mide kanseri için risk faktörü oluşturmamaktadır(71).

Yağ metabolik olarak aktif olup, dolaşıma insulin benzeri büyüme faktörü ve leptin gibi metabolik ürünler salgılamaktadır. Bu metabolik ürünler hücre ölümünün azalması, hücre döngüsünde büyüme değişiklikleri indüksiyonu ve pro-neoplastik hücrel değişiklikler yaparak malignitelerin oluşumunda rol oynamaktadır(72,73).

Sosyoekonomik durum

Düşük sosyoekonomik statü (SES) mide kanseri risk faktörlerindendir (74).Düşük SES nedeni ile taze gıda, meyve ve sebzelere erişimin az olması, H.pylori enfeksiyon oranının yüksek olması mide kanseri riskini artırmaktadır(75).

Abdominal radyoterapi ile ilişkili

Hodgkin lenfoması nedeni ile subdiyafragmatik radyoterapi alan hastalarda yapılan bir çalışmada mide kanseri riski arttığı gösterilmiştir. Radyasyonun dozu arttıkça mide kanser riski artmaktadır(76).

Gastrik cerrahi

Gastroektomi yapılan hastalarda kalan midede gelişen karsinom Remnant mide kanseridir (RGC).İlk defa 1922 yılında Balfour tarafından mide ülseri nedeni ile ameliyat olan kişilerde mide kanseri geliştiği bildirilmiştir(77).Daha sonra mide kanseri ameliyatı sonrası kalan mideden gelişen karsinom da RGC' ye dahil edildi(78,79). Tüm mide kanserlerinin %1 ile %8'ini RGC oluşturmaktadır(78,80).Güncel olarak RGC, başlangıçtaki hastalıktan ve önceki cerrahinin süresinden bağımsız olarak kalan mideden gelişen karsinomdur(81).

PPI gelişimine bağlı olarak son yıllarda peptic ülsere bağlı gastroektomi nadir yapılmaktadır ve buna bağlı olarak benin hastalık sonrası Remnant gastrik kanser (RGC-B) az görülmektedir(82).Mide kanseri hastalarının erken teşhis, cerrahi ve kemoterapiye bağlı iyileşmeler sonucu sağkalım oranlarında artma görülmektedir. Bu ikincil olarak da mide kanseri sonrası RGC' de (RGC-M) artma saptanmaktadır(83).

RGC-B'nin gelişim zaman aralığı RGC-M'nin gelişim aralığının uzun olması karsinogenez mekanizmasının farklılıklarındandır. Gastroektomi yapılan hastalarda kalan midenin safra reflüsü ile kronik uyarılması ve mukoza denervasyonu gibi faktörler RGC-B'nin

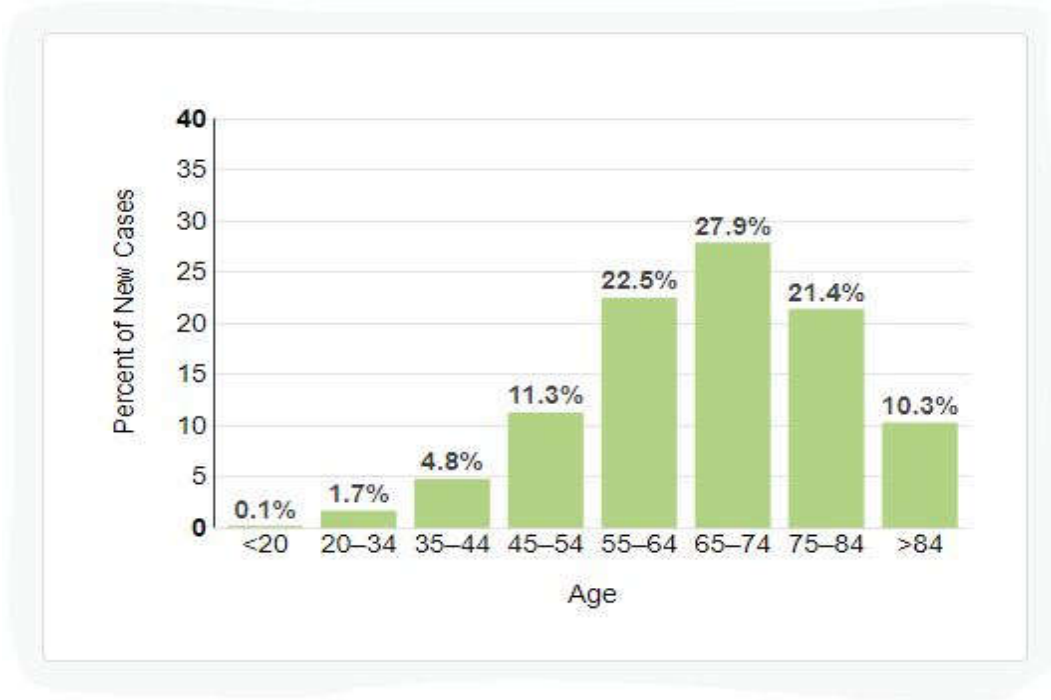
gelişiminde rol oynamaktadır. RGC-M'nin gelişiminde de bu faktörler yer almaktadır. RGC-M'nin gelişiminden bu faktörlere ek olarak, kalan midede atrofik gastrit, intestinal metaplazi, kalan midede gizli kanser hücresi veya meta kron mide kanseri gibi faktörler sorumludur. RGC-B ile RGC-M'nin gelişimindeki farklı zaman aralığının ana nedeni prekanseröz faktörlerdir(83–86).

2.2.2.GENETİK VEYA HASTA İLE İLİŞKİLİ FAKTÖRLER

Yaş ve cinsiyet

Yaşlanmayla birlikte mide kanseri riski artmaktadır. Mide kanserinin en sık görüldüğü yaş 65-74 yaş aralığıdır. Ortanca tanı yaşı 68'dir.Mide kanserinin yaş grubuna göre yeni vaka yüzdesi gösterilmiştir (Şekil 3)(87). Yaşlanma ile birlikte mide mukozasında bir sıra değişiklikler: mide mukozasının iyileşmesinin gecikmesi ve mukozal hasara duyarlılığının artması , kanserojenlere maruz kalmanın artması, kronik atrofik gastrit yaygınlığının artması, mukozal atrofi ve intestinal metaplazi oluşmaktadır. Özellikle, H.pylori enfekte olan kişilerde daha fazla görülmektedir(88–90).

Erkeklerde mide kanseri kadınlara kıyasla 2 kat daha fazla görülmektedir(2,87).



Şekil 3: Mide kanserinin yaş grubuna göre prevalansı (SEER 22 2015–2019, tüm ırklar, her iki cinsiyet)(87).

Aile öyküsü

Aile öyküsü mide kanseri için risk faktörü olup, bu hastalık dışında da başka hastalıkların yüksek gruplarını tanımlamak için kullanılmaktadır(91–93).Mide kanserinin aile agregasyonu, genetik kalıtım ile çevresel ve yaşam tarzı değişiklikleri arasındaki karmaşık bir ilişkiden oluşmaktadır(94).Mide kanserlerin %10-%20'si pozitif aile öyküsüne sahiptir. Mide kanserlerin %80-%90'ı sporadik olup, %1 ile %3'ü net Mendel kalıtımı göstermektedir (95).Ailesel (kalıtsal) sendromlar üç primer ailesel mide kanseri içermektedir: herediter difüz mide kanseri (HDGC) (94),ailesel intestinal mide kanseri (FIGC),gastrik adenokarsinom ve midenin proksimal polipozisi (GAPSS) (96).

A kan grubu

1953 yılında A kan grubu ile mide kanseri arasındaki ilişkiyi ilk fark edenler Aird ve ark. tarafından olmuşlardır(97).O zamandan beri meta-analiz de dahil olmakla birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda A kan grubu olanlar ile diğer kan grupları olanları kıyaslamışlar. A kan grubu olan kişilerde mide kanseri görülme sıklığı daha fazla saptanmıştır (98–101).Mide kanseri ile A kan grubu arasındaki ilişkide, gastrik sekresyon fonksiyonundaki değişiklikler, hücre içi adezyon reseptörleri, membran sinyalizasyonu ve persiniyöz anemiye duyarlılık gibi birçok neden gösterilmiştir(102–104).

Persiniyöz anemi

Persiniyöz anemi (PA) vitamin B12 eksikliğinin en yaygın nedenidir. ABD, İngiltere ve diğer ülkelerde 60 yaş ve üzerindeki kişilerin %2 ile %5'inde PA görülmektedir. Oto antikorlar midenin pariyetal hücrelerini hedef alarak, hasar oluşturur ve pariyetal hücrelerin kaybına yol açar, kronik atrofik otoimmün gastritin gelişimine neden olur. PA Kronik atrofik otoimmün gastritin sonucudur(105–107). PA ile kronik atrofik otoimmün gastrit arasındaki ilişki nedeni ile mide kanseri risk faktörü sayılmaktadır(108).

Düzenli olarak vitamin B12 enjeksiyonları anemini tedavi eder, ama otoimmün gastriti tedavi etmez(109).

Gastroözofageal reflü hastalığı

Gastroözofageal reflü hastalığı (GÖRH) olan kişilerde özofagus kanser riskinde 5-7 kat artış görülmektedir(110). GÖRH ile kardiya mide kanseri (111–115) arasındaki ilişkilerin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar vardır. Çalışmaların

çoğunda mide kanser riskinin 2-4 kat arttığı gösterilmiştir(116–118). Kardiya dışı mide kanseri ile GÖRH arasında önemsiz ve ya ters bir ilişki rapor edilmiştir(113,114,116,117,119).

Gastrik ülser

1980’li yılların başında H.pylori’ in keşfi ile üst gastrointestinal sistem hastalıklarının anlaşılmasını ve yönetimini önemli ölçüde değiştirmiştir(120,121). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından H.pylori mide kanseri için Sınıf I karsinojen olarak derecelendirilmiştir. Aynı zamanda, mide ve duodenal ülser gelişiminden sorumlu olan risk faktörleri arasındadır(122,123). Bu yüzden, mide ülseri ve H.pylori enfeksiyonu olan hastalarda mide kanseri riski artmıştır(124–127). Klinisyenler arasında farklı fikirler olmasına rağmen, mide ülseri olan hastaların mide kanseri riski arttığı, duodenal ülseri olan hastaların genel popülasyona kıyasla mide kanseri riskinde değişikliğin olmadığı düşünülmüşedir(126–133).

H.pylori hem mide kanserinin, hem de mide ülserinin önemli risk faktörlerinden biridir. H.pylori dışında mide ülserinin en sık nedeni olan steroid olmayan anti inflamatuvar ilaçlardır (NSAİİ). NSAİİ mide ülseri için önemli risk faktörü olmasına rağmen, mide kanseri gelişimine karşı koruyucu olabileceği şaşkınlık yarattı(134,135).

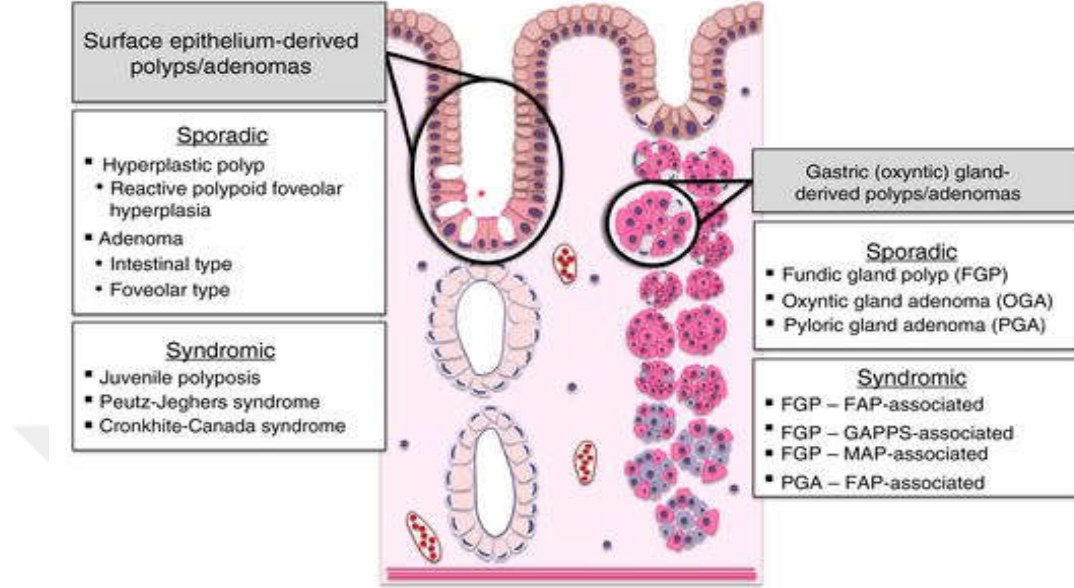
Hansson ve ark. yaptığı İsveç kohort çalışması mide ülseri nedeni ile mide kanseri riskinin artmasını gösteren önemli çalışmadır(126).

Mide ülseri hastaların yaklaşık %2’sinde mide kanseri olduğu bildirilmiştir. Buna rağmen, artan mide kanseri riski direkt olarak mide ülseri ile ilişkilendirilmemiştir(136). Mide ülseri olan ve mide ülseri olmayan dispepsili hastalarda aynı oranda mide kanseri geliştiği saptanmıştır(137).Bundan başka, Lee ve ark. kanserlerin tahminen %80’e yakını orijinal ülserin olduğu yerden değil, midenin farklı bölgelerinden geliştiğini göstermiştir(138).

Gastrik polipler

Çoğu polipler, endoskopik görünüm, boyut, ilişkili patolojiler gibi farklı özelliklere sahiptir(139–141). Filo genetik olarak , polipler orijin aldığı epitel bölmesine göre sınıflandırılabilir (Şekil 4) (142). Batı ülkelerinde, özofagogastroduodenoskopide (EGD) en yaygın saptanan polip türü fundik bez polipleridir. Yapılan bir patolojik çalışmada, EGD’ si yapılan hastaların %6’sında ve histopatolojik inceleme için gönderilen gastrik poliplerin %74’ünde fundik bez polipleri görülmüştür(140). Endoskopik olarak, genellikle çoklu, sapsız, küçük (1 cm altında), pürüzsüz ve camsı görünümündedirler(143). Fundik bez poliplerin gelişiminde PPI kullanımı rol aldığı düşünülmektedir(144,145). Fundik bez poliplerinde gerçek

displazi, özellikle yüksek dereceli displazi son derece nadirdir. Polipozis sendromlu hastalarda bulunan fundik bez polipleri ile sınırlı kalmaktadır(146).



Şekil 4: Mide poliplerinin mukozal kompartmanlarına göre sınıflandırılması(142).

Gastrik foveolar hücrelerin enflamatuvar proliferasyon sonucu hiperplastik polipler gelişmektedir. Gastrik hiperplastik poliplerin gelişiminde H.pylori enfeksiyonu ve ya otoimmün gastrit rol oynamaktadır(147,148). Batı ülkelerinde EGD yapılan hastalarda görülen poliplerin %20'sinden azına sahiptir(140). Endoskopik olarak, sıklıkla çokturlar ve genellikle pürüzsüz, kubbe şeklindedirler. Çapları 0,5 ile 1,5 cm arasındadır ve daha büyük olan hiperplastik polipler sıklıkla lobüle ve pedünküle şeklindedirler(149). Hiperplastik poliplerin %1'i ile %20'sinin displazi odakları içerdiği bildirilmiştir(150–152). Hiperplastik poliplerde mide kanseri görülme sıklığı %2'den azdır ve 2 cm'den büyük poliplerde daha sık görülmektedir(153–155).

DSÖ tarafından önerilen yeni terminolojiye (yükseltilmiş intraepitelyal neoplazi) rağmen, en yaygın gastrik neoplastik polip, adenoma olarak adlandırılan epitelyal displastik böğümedir(156,157).Histolojik olarak, foveolar ve intestinal tip adenomlar görülmektedir. Vakaların %56'sı intestinal tip, %41'ni foveolar tip adenomlar oluşturmaktadır. Foveolar tip adenomlar normal gastrik mukozadan gelişmektedir. İntestinal tip adenomların gelişimi AG, IM , otoimmün gastrit ve H.pylori enfeksiyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (158). Batıda , adenomlar tüm gastrik poliplerin %1'den azını oluşturmaktadır ve mide kanseri insidansının

yüksek olduğu bazı Doğu Asya bölgelerinde gastrik poliplerin dörtte biri adenomlardır(139,159). Gastrik adenomların gelişiminde sıklıkla H.pylori ilişkili olup, AG ve IM gelişimi sonrasında ortaya çıkan displastik epitel hücrelerinden oluşur. Gastrik adenomlar displazi sonrası mide kanserine ilerlemektedir. Adenomlar ne kadar büyük ölçüde olursa, adenokarsinom odakları içerme ihtimali artar. Midenin farklı yerlerindeki senkron adenokarsinomlar, adenokarsinom odakları içeren adenomlu hastaların %30'a kadarında saptanmıştır(160–162).

Adenomatöz polipler, malin transformasyon oranları %6-%47 arasında değişmektedir(163–167).

2.2.3.PREKÜRSÖR LEZYONLAR

Kronik atrofik gastrit, İntestinal metaplazi ve displazi

Gastrit, midenin mukozal zarının hasarlanmaya bağlı olarak iltihaplanması sonucu oluşmaktadır. AG prevalansı yaklaşık %16'dır(168,169). H.pylori , diyet, sigara içme, genetik duyarlılık vb. faktörler kanserojen sürece katılmaktadır(170). H.pylori enfeksiyonu sonrasında mide kanseri bir sıra öncü lezyon yoluyla geliştiği bilinmektedir. Bu yol kronik yüzeysel gastrit, kronik atrofik gastrit, gastrik atrofi, IM, displazi ve nihayetinde mide kanseri gelişimi şeklindedir(171,172). Ayrıca otoimmünitenin de neden olduğu AG,IM ve mide kanseri riskini artırmaktadır(173).

Hollanda'da yapılan bir kohort çalışması, mide öncül lezyonların sırası ve ciddiyetine göre kademeli şekilde mide kanser riskinin arttığı gösterilmiştir(174). Tanıdan sonraki 5 yıl içerisinde mide kanserinin yıllık insidansı: kronik atrofik gastrit, IM, hafif orta dereceli displazi ve yüksek dereceli displazi için her biri sırasıyla %0.1, %0.25, %0.6 ve %6 (174).

Sidney sınıflandırma sistemi dışında kronik gastrit için çeşitli sınıflandırma sistemleri geliştirilmiştir(175). Gastrik Risk İndeksi (176) ve Gastrit Değerlendirilme sistemi ile ilgili Operatif bağlantı (OLGA) gibi sınıflandırma sistemleri kronik gastriti derecelendirmek için önerilmiştir(177). Özellikle beş aşamalı (0-4) OLGA sistemi, AG ve IM ile ilişkili mide kanser riskini tahmin etmek için temel sağlar ve klinik sürveyansa rehberlik eder(178). OLGA evreleme sisteminde, evre 3 ve 4 mide kanseri gelişim riski ile önemli ölçüde ilişkilidir(177,179,180).

İyi bilinen kanıtlar' da IM' den intestinal tip mide kanseri geliştiği gösterilmektedir(181). IM prevalansı yaklaşık %13'dür(168,169). IM'ın tam ve

tamamlanmamış olarak 2 türü vardır. Tam IM kadeh hücrelerini, lüminal fırça kenarlıklı emici enterositleri ve intestinal müsin (MUC2) ekspresyonu sergilemektedir. Buna kıyasla, tamamlanmamış IM fırça sınırı olmayan emici hücreleri, goblet hücreleri, bağırsak ve gastrik (MUC5AC,MUC6) müsinlerin birlikte ekspresyonunu göstermektedir(182).Epidemiyolojik bir çalışmada, IM' li hastaların mide kanseri riski 10 kattan fazla arttığı bildirilmiştir(183).

Gastrik displazi, lamina propria invazyonu kanıtı olmadan gastrik epiteldeki kesin neoplastik değişikliklerdir. Tanı kriterleri hücresel atipi, anormal farklılaşma, artmış mitotik aktivite ve mimari düzensizlik içermektedir. Endoskopik olarak, gastrik displazi düz, depresif ve polypoid lezyonlar şeklinde görünmektedir(184).

Histomorfolojik olarak, gastrik displazi intestinal ve faveolar (gastrik) tipe ayrılmaktadır. Yüksek dereceli olma olasılığı faveolar tip displazide daha yüksektir ve mide kanseri ile daha sık ilişkidir(184).

2.2.4.MİDE KANSERİNİN ÖNLENMESİ

Mide kanseri sıklıkla kötü prognozlu bir hastalıktır. Mide kanseri önlemenin amacı, klinik sonuçları iyileştirmek, kanser insidansını ve mortalite oranlarını azaltmaktır. Birincil önleme, konakçı savunma mekanizmalarının iyileştirilmesi ,kanserojenden kaçınma, kemoprevensiyon ve yaşam tarzındaki değişiklikler içermektedir(185). Mide kanseri mortalitesindeki azalma genellikle planlanmamış önlemenin sonucudur. Soğutmanın yaygın olarak kullanılması, kimyasal olarak korunmuş gıdaların kullanımında azalma, taze meyve ve sebzelerin tüketiminin artmasına sebep olmuştur(186,187).Barınma ve sanitasyon koşulların iyileştirilmesi , bununla birlikte eradikasyon tedavisinin uygulanması H.pylori enfeksiyonu prevalansındaki düşüşe neden olmuştur(188). Yedi randomize çalışmanın meta-analizi, H.pylori enfeksiyon tedavisi mide kanseri riskinde %35'lik azalma sağladığı gösterilmiştir (189).Mide kanseri insidansındaki düşüşü katkıda bulunan diğer bir neden erkeklerde sigara içiminde azalma olabilir(190). Sonuç olarak, H.pylori enfeksiyonu, sigara içimi, düşük meyve ve sebze alımı, yüksek tuz ve nitrit tüketimi gibi değiştirilebilir risk faktörleri önleme amaçlı kullanılabilir(191).

C ve E vitamini, beta-karoten gibi antioksidanların yüksek alımı mide kanseri riskine karşı koruyuculuk sağlayabilir. Şanghay'da yapılan bir çalışmada, yüksek serum C vitamini, alfa-karoten ve beta-karoten seviyeleri mide kanseri riskinde azalma sağladığı bildirilmiştir(192). Çin'de yapılan başka bir çalışmada, selenyum, alfa-karoten ve beta-karoten ile takviye almış kişilerde mide kanseri riskinde azalma göstermiştir(193). Bununla birlikte,

Finlandiya’da yapılan bir çalışmada , alfa-karoten ve beta-karoten takviyesi yapılan atrofik gastriti olan kişilerde mide kanseri insidansını etkilemediği göstermiştir(194). Bir diğer çalışmada, vitamin takviyesi alan kişilerde mide kanseri riskinde azalma görülmemiştir(195). Bu nedenle, yüksek mide kanseri riski ve düşük mikro besin alımı olan popülasyonlarda diyet takviyesinin önleyici etkisi olabilir(196–198).

Siklooksijenaz-2 (COX-2) hücre proliferasyonu, apoptozis ve anjiyogenezde rol oynar. Mide karsinogenezisi ile ilişkili olabilir(199,200).Atrofik gastritten IM’ sine ve mide kanserine ilerlemede COX-2 seviyelerinin arttığı görülmüştür(201). H.pylori enfeksiyonu, sigara içimi ve ya sigara dumanına maruz kalma ve asidik koşullar COX-2 ekspresyonunu artırmaktadır(202–204).

Aspirin ve diğer NSAİİ’ ler COX-2 inhibe ederek, kanser hücrelerinin büyümesini engellediği düşünülmektedir. COX-2 inhibitörlerin üst GİS malignitelerinin önlenmesinde faydalı olabileceğine dair çalışmalar artmaktadır(205–207).

Bir meta-analizde , en aktif olan kişilerle en az aktif olan kişileri karşılaştırmışlar ve mide kanser riskinde yaklaşık %21’lik azalma görülmüştür(208).

İkincil önleme, premalign lezyonların ve ya erken evre kanserlerin taranması ve tedavisini içermektedir(209).Yaygın atrofik gastrit ve ya IM olan hastalarda mide kanseri riski artmaktadır. Bu hastalara periyodik endoskopik gözetim önerilmektedir(210). Japonya gibi riskli popülasyonu olan ölkelerde,40 yaşın üzerindeki kişilere çift kontrastlı baryum tekniği ve endoskopi ile yıllık tarama önerilmektedir(211). Bu lezyonlar topografik olarak saptanabilirse, endoskopik rezeksiyon uygun bir yaklaşım olabilir. Japonya’da bu lezyonları olan hastalara endoskopik rezeksiyon uygulanmaktadır ve 5 yıllık sağkalım yaklaşık olarak %90’dır(212).

2.2.5.MİDE KANSERİNİN SINIFLANMASI

Histopatolojik sınıflama

Mide malin tümörleri arasında en sık görüleni mide kanseridir. Mide kanserleri içerisinde en çok görüleni adenokarsinomdur. DSÖ mide kanserini histo-morfolojik paternine göre sınıflandırmıştır ve mide kanserlerini özellikle beş ana gruba ayırmaktadır. Tübüler, papiller, müsinöz , zayıf kohezif (taşlı yüzük hücreli karsinom dahil) ve mikst karsinomlara ayırmaktadır(213).

1960’larda Lauren glandüler büyüme paternine göre mide adenokarsinomlarını sınıflandırmıştır. Mide adenokarsinomları Lauran sınıflamasına göre intestinal ,difüz, belirsiz ve mikst alt tiplere ayrılır (Tablo 1) (214). İntestinal tip mide adenokarsinomu en yaygın alt tip olup, vakaların %54’ünde görülmektedir. Genel olarak, antruma lokalize olup, erkeklerde

kadınlara kıyasla 2 kat daha sıktır. histopatolojik olarak malin epitel hücreleri ile karakterize olup, çevre dokuyu infiltre eden kohezyon ve glandüler farklılaşma göstermektedir(215). Bunun tersine, difüz tip adenokarsinom vakaların %32’de görülmektedir. Zayıf farklılaşma ve uyum eksikliği gösteren tümör hücrelerine sahiptir. Difüz alt tipi erkekler ve kadınlar arasında eşit görülmektedir. İntestinal tipin aksine, difüz tipte hastalar ortalama olarak daha gençtir. Difüz tip mide kanserinin gelişiminde genellikle kalıtsal ve genetik faktörler, intestinal tip mide kanserinde ise çevresel faktörler rol oynamaktadır. Farklı nüks paternleri ile temel klinik fark oluşmaktadır. Difüz-mikst tiplerde periton yayılımı daha eğilimliken, intestinal tipte karaciğer metastazı riski daha yüksektir (Tablo 1) (213).

Tablo 1. Lauren sınıflamasına göre intestinal ve difüz tip adenokarsinomun özellikleri

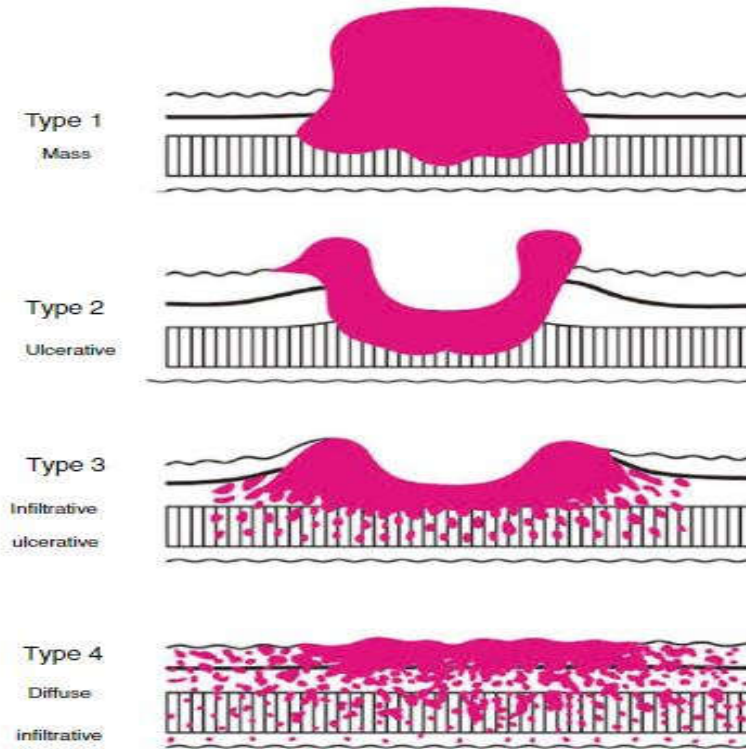
Özellik	İntestinal tip	Difüz tip
<i>İnsidans</i>	Azalıyor	Dengede
<i>Etiyoloji</i>	Çevresel sıklıkla	Ailesel sıklıkla
<i>Cinsiyet</i>	Erkeklerde daha sık	Kadın erkek aynı
<i>Görülme yaşı</i>	Yaşlılarda	Gençlerde
<i>Lokalizasyon</i>	Distal	Proksimal
<i>Karsinojenez</i>	İyi biliniyor	Bilinmiyor
<i>Lezyonun mikroskopisi</i>	İyi diferansiye, gland formasyonu, Yavaş büyüyen hücreler	Kötü diferansiye, Gland formasyonu yok, yaygın, Taşlı yüzük hücreli
<i>Yayılım</i>	Hematojen	Transmural / Lenfatik
<i>Lezyonun makroskopisi</i>	Ülsere kitle	Difüz infiltratife (linitis plastica)
<i>Prognoz</i>	Daha iyi	Kötü

Mide kanseri çeşitli sınıflandırma sistemlerinden bir diğerini 1923 yılında Borrmann tarafından geliştirilmiştir. Borrmann, tümörün mide mukozasındaki görünümüne ve mide duvarındaki yayılma şekline göre sınıflandırma yapmıştır.

- a) Tip I. Yüzeysel tip, ülserasyon olmayan, polipoid veya fungiform tümörler.
- b) Tip II. Ülser, keskin sınırlı tümörler.
- c) Tip III. Mide duvarını infiltre eden ülsera tümörler.
- d) Tip IV. Difüz infiltratif tümörler.
- e) Tip V. Sınıflandırılmayan tümörler.

Borrmann tip I ve II iyi tanımlanmış ve lokalize tümörlerdir. Borrmann tip III ve IV kötü diferansiye ve infiltratif tümörlerdir(216–218).

Temel sınıflandırma, brüt tümör morfolojisine göre, yüzeysel veya ileri tip olarak sınıflandırılır. T1 tümörler yüzeysel ve ya erken evre,T2-4 tümörleri genellikle ileri evre kanserler şeklinde kendilerini gösterir (Şekil 5) (219).



Şekil 5: Makroskopik olarak ileri mide kanseri türleri(217).

Moleküler sınıflama

Kanser Genom Atlası (TCGA) mide kanserini moleküler olarak 4 alt tipe sınıflandırmıştır (Şekil 6). Örneklerin yaklaşık %50'sini temsil ettiği için ek sık görülen alt tip kromozomal instabilitedir (CIN). Diğer alt tipler sırasıyla mikrosatellit instabilitesi (MSI-h), genomik olarak stabil (GS) ve EBV-pozitif tiplerdir(220).

Subtypes	EBV-positive	MSI	GS	CIN
Frequency, %	8.8	21.7	19.7	49.8
Demographic	Male patients (81%)	Old age (median 72 years)	Young age (median 59 years)	No special
Histology			Diffuse histology	Intestinal histology
Main location	Fundus or body (62%)			GEJ/cardia (65%)
Molecular alterations	EBV-CIMP PD-L1/2, JAK2 overexpression Mutation in PIK3CA, ARID1A, and BCOR CDKN2A silencing Immune cell signaling Rare TP53 mutations	Gastric-CIMP Hypermutation in TP53, PIK3CA, ERBB3, and ARID1A MLH1 silencing Mitotic pathways activation Commune changes in the genes of CMHI	CDH1 and RHOA mutation CLDN18-ARHGAP fusion Cell adhesion, angiogenesis pathways enriched Rare TP53 mutations	TP53 mutation RTK-RAS activation Mutations of SMAD4 and APC
Potential targets	PIK3CA, JAK2, and PD-L1/PD-L2	PIK3CA, ERBB2/3, EGFR, PD-L1, and MLH1 silencing	RHOA and CLDN18	RTKS, EGFR, VEGFA, CCNE1, CCND1, and CDK6
Treatment reaction		No respond to adjuvant chemotherapy		
Predictive	Yes	Yes	No	No
Prognostic	Yes	Yes	Yes	Yes

ARID1A, AT-rich interactive domain-containing protein 1A; BCOR, B-cell lymphoma 6 corepressor; CIN, chromosomal instability; GS, genomically stable; GC, gastric cancer; CIMP, CpG island methylator phenotype; DNMT3b, DNA methyltransferase 3b; EBV, Epstein-Barr virus; EGFR, epithelial growth factor receptor; ERBB2, Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2; JAK2, Janus-associated kinase 2; LMP2A, latent membrane protein 2A; LELC, lymphoepithelioma-like carcinoma; MSI, microsatellite instability; PI3K, phosphatidylinositol-3-kinase; RHOA, Ras homolog family member A; TCGA, The Cancer Genome Atlas; PD-L1/2, programmed death ligand-1/2; CDK6, cell division protein kinase 6; GEJ, gastroesophageal junction.

Şekil 6: TCGA mide kanseri hastalarında moleküler sınıflama (221).

2.2.6.MİDE KANSERİNDE SEMPTOM VE BULGULAR

Mide kanserinin başlangıç dönemleri genellikle asemptomatiktir. Bazen dispepsi, emezis, erken doyma gibi spesifik olmayan semptomlar göstermektedir. İleri evre mide kanserlerinde kalıcı karın ağrısı, anoreksiya ve kilo kaybı eşlik etmektedir. Hematemez ülsera tümör ile ilişkili olabilir. İleri evre vakalarda tümörün pilor obstrüksiyonuna bağlı kalıcı veya

dirençli kusma eşlik edebilir. Spesifik semptomların erken evrelerde eksik görülmesi gecikmiş tanıya neden olabilir. Erken teşhis ve tarama programlarının olmadığı ülkelerde hastaların tahminen %80'e yakını erken evrede tanı alamamaktadır(222).

Proksimal mide kanserlerinde disfaji ve regürjitasyon oluşabilir. Mide kanserlerinde kanama veya emilim bozukluğuna sekonder olarak anemi görülebilir. Hastalar semptom ve belirtiler tanı anında sahipse, genellikle hastalık ileri evre ve tedavi edilemez konumdadır(223,224).

Hastalığın erken evresinde fizik muayene açıklayıcı değildir. İleri evrede baş vuran hastalarda uzak metastazların semptom ve belirtileri görülmektedir. Bu belirti ve semptomlar: abdominal kitle varlığı, sol supraklaviküler lenfadenopati-Virchow nodu, umbilikal nodül (Sister Mary Joseph' s node), dijital rektal muayenede saptanan rektumun önünde palpe edilen tümör birikimi (Blumer's shelf)(225).

Genellikle ileri evrede mide kanseri ile ilgili para-neoplastik bulgular ortaya çıkmaktadır. Para-neoplastik sendromlara ve ya bulgulara mikroanjiopatik hemolitik anemi (226), otoimmün pankreatit(227), humoral hiperkalsemi(228), akantozis nigrikans(229), membranöz nefropati(230),nörolojik sendromlar(231) gibi örnekler gösterilebilir.

2.2.7.MİDE KANSERİ TANI YÖNTEMLERİ

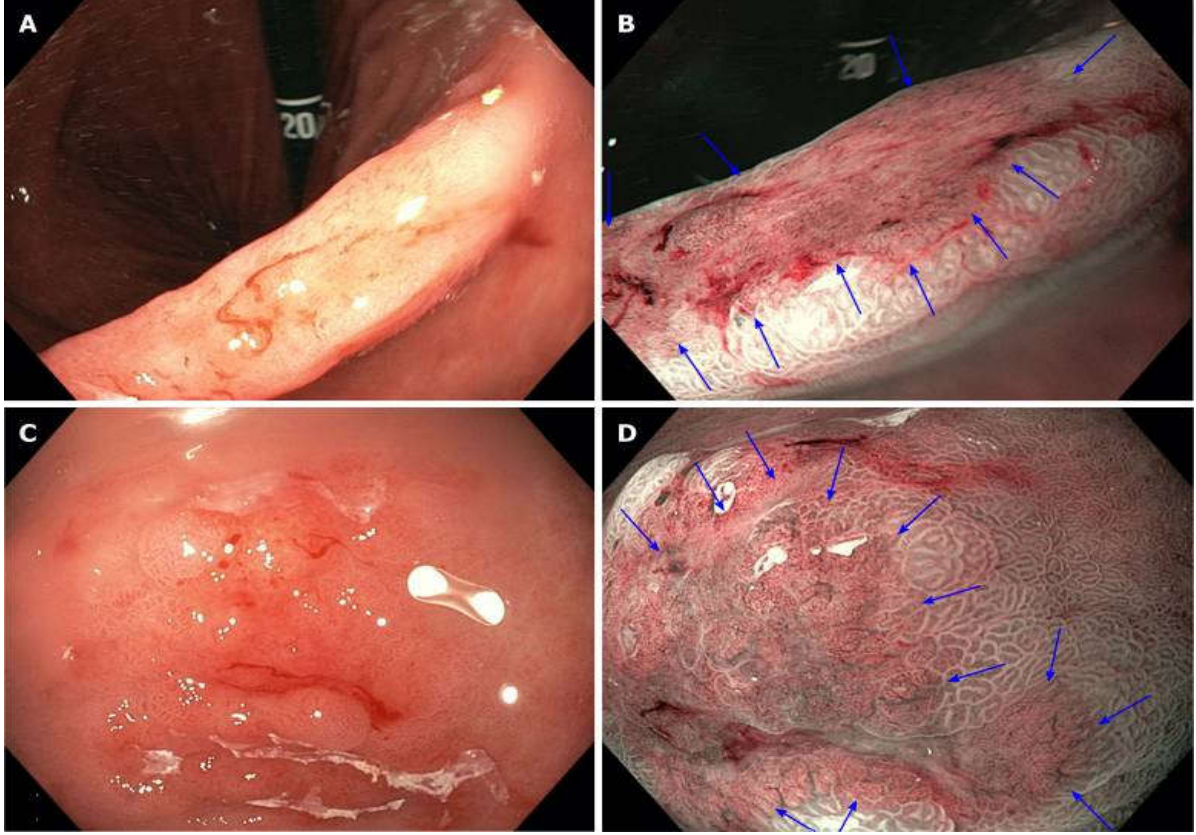
Endoskopi

Mide kanseri tanısında altın standart üst gastrointestinal endoskopidir. Kore, Japonya, Venezüella gibi yüksek riskli bölgelerde EGD mide kanseri taraması için yaygın kullanılmaktadır(11). Kanama ve perforasyon riski düşük olup, endoskopi invaziv işlemdir ve mortalitesi %0.0008 olarak rapor edilmiştir(232).

Japon kılavuzları, 50 yaş üzerindeki kişiler için iki yılda veya üç yılda bir endoskopik tarama önerilir. Böylece, prekanseröz lezyonlar ve mide kanseri endoskopik rezektabl düzeyde tespit edilmektedir. Mide kanserine bağlı mortaliteni yaklaşık %63 oranında önleyebilir(233).

Beyaz ışık endoskopisi (WLE), kromoendoskopi, dar bant görüntüleme (NBI) vb. endoskopik görüntüleme yöntemleri mevcuttur. WLE konvansiyonel endoskopik görüntüleme yöntemidir. Mide mukozasında kırmızı reng değişikliği, mide lezyonlarının karsinomatöz transformasyonu, depresif tip lezyonlar, mukozal ülserasyon gibi bulguların saptanmasında yeterlidir(234,235). Geleneksel kromoendoskopide doku karakterizasyonunu iyileştirmek için topikal olarak boyalar kullanılmaktadır(236,237). En sık kullanılan sanal kromoendoskopi

NBI' tır. NBI mukozanın tanımını iyileştirirken, vasküler ağın kontrastını vurgular. Gastrik prekanseröz lezyonların tespitinde NBI WLE' den üstündür (Şekil 7) (238,239).



Şekil 7: NBI ile WLE' in kıyaslanması. NBI' de düzensiz mikrovasküler-mikro yüzey ve net sınır çizgilerini göstermektedir. A: WLE' de insizura bölgesinde erken mide kanseri. B: NBI' de görülen aynı lezyon (mavi oklar). C: WLE' de antrum bölgesinde erken mide kanseri. D: NBI' de görülen aynı lezyon (mavi oklar)(240).

Endoskopik Ultrason

1980'li yıllarda endoskopik ultrason (EUS) klinik kullanıma başlanılmıştır. EUS ile lokal tümör infiltrasyon kapsamını ve lokal lenf nodu durumunu değerlendirilmek için uygulanmaktadır(241–243). EUS mide duvarı katmanlarının yanında karaciğerde büyümüş bölgesel lenf nodlarını ve metastazın tanımlanmasına olanak sağlar. Böylece, mide kanserini TNM sınıflanmasına göre evrelendirilmek için kullanılabilir(244,245). Aynı zamanda , EUS ile erken kanserli hastaların endoskopik mukozal rezeksiyon için uygun olup olmadığını değerlendirilmektedir(246). Bundan başka , EUS ile ileri evre mide kanserli hastalarda

neoadjuvant kemoterapi ve ya multiviserel rezeksiyon açısından değerlendirilmek için kullanılmaktadır ve böylece, bu hastalar için uygun tedavi stratejisi planlamakta yardımcı olabilir(244,247).

EUS' un bazı dezavantajları mevcuttur. Operatöre oldukça bağımlı, maliyetli, uzak metastazların değerlendirilmesinde sınırlı kalır. Ayrıca EUS invaziv ve sedasyon gerektiren işlem olduğu için mortalite de dahil olmakla bir sıra komplikasyon gelişebilmektedir(242).

EUS T evrelemesi için %56.9 ile %87.7 oranında tanısal doğrulamaya sahiptir. N evrelemesi için tanısal doğrulama ise %30 ile %90 oranında değişmektedir(248).

Bilgisayarlı Tomografi

Bilgisayarlı Tomografi (BT), EUS gibi görüntüleme yöntemleri erken mide kanserinin preoperatife tanısı için kullanılmaktadır. Endoskopik mukozal rezeksiyon düşünen endoskopistler için T1 ve T2'nin klinik tanısı oldukça önemlidir. EUS deneyimli tıp merkezlerinde yapıldığı için mide kanserli tüm hastalar EUS ile incelenemez. Bu nedenle, günümüzde mide kanseri evrelemesi için kullanılan rutin görüntüleme yöntemi BT'dir. BT mide kanserli hastalarda primer tümörün görüntüsünü sağlamaktadır. Aynı zamanda, tümör invazyon derinliğini tahmin edebilir, nodal tutulum, uzak metastazları saptayabilir(248–257).

Günümüzde mide kanserinin Tümör-Nodül-Metastaz (TNM) evrelemesi için ana görüntüleme yöntemi kontrastlı BT'dir(258–260).

Pozitron Emisyon Tomografi

Son yıllarda, Pozitron Emisyon Tomografi (PET) 18F-florodeoksi glukoz (FDG) izleyicisi kullanarak tümörler hakkında metabolik bilgi sağlar ve farklı malignitelerin tanı ve değerlendirilmesinde faydalı rol oynamaktadır. Artık çoğu PET tarayıcısı bilgisayarlı tomografi (BT) ile tek bir sisteme entegre edildi. Bu nedenle hem metabolik hem de anatomik görüntüleri birleştirerek tanısal doğruluk oranı artmıştır. FDG PET/BT farklı malignitelerin tanısında, evrelemesinde, tedavi yanıtının değerlendirilmesinde, nüks sürveyansında ve metastaz tespitinde büyük fayda sağlamıştır(261).

Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (NCCN) mide kanserli hastalarda metastatik hastalık belirgin değilse ve ya gizli metastatik hastalık gösterilmesinde fayda sağlanacaksa, PET/BT önermektedir(261).

Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği kılavuzları PET ile mide kanserinde evrelemeyi iyileştireceği düşündürmektedir(262).

Biyopsi

Biyopsi, midenin prekanseröz lezyonları ve mide kanseri tanısı için önemli bir tanı aracıdır. Biyopsiler rastgele veya fark edilebilir lezyonlardan forseps yolu ile alınmaktadır. Günümüzde biyopsi örneklerini almak için EGD kullanılmaktadır(263).

Özellikle ülseratif tümörlerde neoplastik hücreler lezyonun tamamını kaplamayabilir. Neoplastik doku elde etme olasılığını artırmak için çoklu biyopsiler alınması önerilmektedir(264).

2.2.8.MİDE KANSERİNDE EVRELENME

TNM Evreleme Sistemi.

Tümör-Lenf nodu-Metastaz (TNM) evreleme sistemi, mide kanserinin terapötik stratejisinin belirlenmesinde ve prognozunda önemli rol oynadığı için yaygın şekilde kullanılır(265,266).2017 yılında Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) tarafından TNM evreleme sisteminin 8.baskısı tanıtıldı. AJCC TNM sistemi, hastaları tümör infiltrasyonunun derinliğine (T), bölgesel metastatik lenf nodlarının sayısına (N) ve uzak metastaz durumuna (M) göre evrelendirir.8.AJCC TNM evreleme sisteminde, metastaz olmayan lenf nodları 1-2, 3-6, 7-15 ve 15'in üzerinde metastatik lenf nodu olan hastalar sırasıyla N0, N1, N2, N3a veya N3b şeklinde sınıflandırılır. AJCC doğru evreleme için en az 16 bölgesel lenf nodunun patolojik değerlendirilmesini önermektedir(267,268).

8.AJCC mide kanseri için TNM evreleme sisteminde, özellikle evre 3'te önemli değişiklikler uygulamıştır(269–271). Evre 1'de değişiklik olmadı ve evre 2'de T1N3bM0 hastaları evre 2B'den evre 3B'ye geçirilmiştir.7.AJCC TNM sisteminde evre 3 ile ilgili olarak, N3 grubu N3a (7-15 pozitif lenf nodu) ve N3b (15 üzerinde pozitif lenf nodu) olarak bölünmüştür. 8.AJCC'de bu hastalarda sağkalımı iyileştirmek için bu N3 grubu alt bölümü dahil edilmiştir(270). AJCC son baskısındaki TNM evreleme sistemi değişiklikler gösterilmiştir (Şekil 8) (272).

7th edition:

	M0					M1
		N0 (0)	N1 (1-2)	N2 (3-6)	N3 (>6)	
M0	T1	IA	IB	IIA	IIB	
	T2	IB	IIA	IIB	IIIA	
	T3	IIA	IIB	IIIA	IIIB	
	T4a	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	
	T4b	IIIB	IIIB	IIIC	IIIC	
M1						IV

8th edition:

	M0						M1
		N0 (0)	N1 (1-2)	N2 (3-6)	N3a (7-15)	N3b (>15)	
M0	T1	IA	IB	IIA	IIB	IIIB*	
	T2	IB	IIA	IIB	IIIA	IIIB*	
	T3	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IIIC*	
	T4a	IIB	IIIA	IIIA*	IIIB*	IIIC	
	T4b	IIIA*	IIIB	IIIB*	IIIC	IIIC	
M1							IV

Şekil 8: AJCC 7. ve 8. sürümler, pTNM karşılaştırılması (*önceki sürümdeki değişiklikleri gösterir).

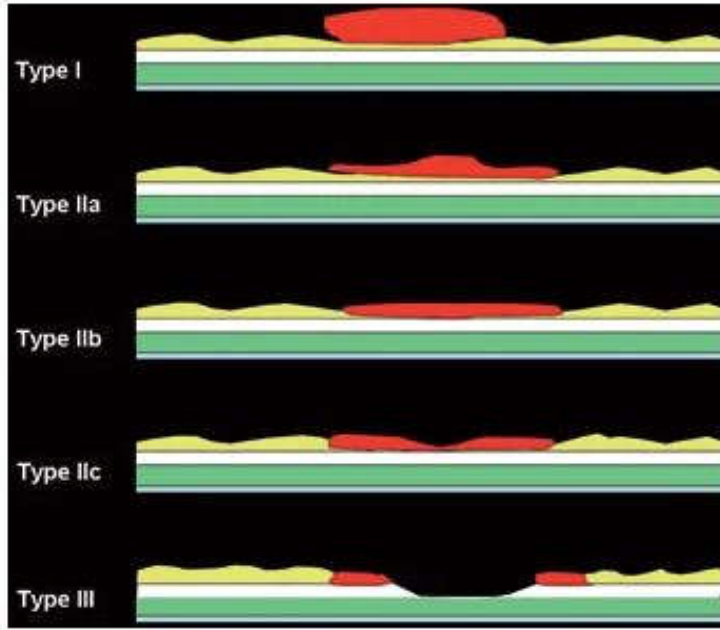
Erken mide kanseri

Erken mide kanseri (EGC), lenf nodu metastazına bakılmaksızın mukoza ve ya submukoza ile sınırlı kanserdir(273–275). İleri evre mide kanserinin 5 yıllık sağkalımı %20'nin altındadır. Ancak EGC' de 5 yıllık sağkalım %90'nın üzerindedir. Bu göre de mide kanserinin erken tanı ve doğru evrelemesi oldukça önemlidir(276–281).

Japon Mide Kanseri Araştırma Derneği tarafından EGC' anın makroskopik bulgularını sınıflandırılmıştır (şekil 9):

- I. Tip I polipoid lezyon
- II. Tip II a yüzeysel olarak yükselmiş lezyon
- III. Tip II b yüzeysel düz lezyon
- IV. Tip II c yüzeysel depresif lezyon
- V. Tip III kazılmış lezyon

Bu lezyonların kombinasyonları mevcuttur(282,283).



Şekil 9: EGC' in morfolojik sınıflanması (282,283).

2.2.9.MİDE KANSERİNDE SERUM TÜMÖR BELİRTEÇLERİ

Mide kanserinde birincil tanı için endoskopi ve biyopsi yöntemi kullanılır. Son zamanlarda mide kanserinin erken tanısı için moleküler biyobelirteçlerin geliştirilmesinde bazı ilerlemeler mevcuttur. Buna rağmen, mide kanseri erken tanısı için kullanılacak yararlı biyobelirteçler sınırlıdır(12). Mide kanserinde prognostik tayin ve nüksün izlenmesinde, uzak metastazı saptamak ve ya cerrahi sonrası izlemek için CEA, CA19-9,CA125 gibi serum tümör biyobelirteçler kullanılmaktadır(284,285). Cerrahi sonrası serum belirteçleri görüntüleme anormalliklerinden genellikle 2-3 ay önce pozitifleşmektedir. Ameliyat öncesi tümör belirteçlerin pozitifliği %20-%30 arasındadır. Nüks anındaki pozitiflik oranları ise %50 üzerindedir(286).

Mide kanserinin çeşitli evrelerinde CEA ve CA19-9 yükselebilir (287). Karaciğer metastazlarının saptanmasında alfa-fetoprotein (AFP) (288) ve periton metastazlarının saptanmasında CA125 (289) kullanılabilir. Mide kanseri hastalarında AFP pozitifliği kötü prognoz ile ilişkilidir(290–292).

Aynı zamanda, bu biyobelirteçlerin çoğu, mide kanserinin erken evrelerinde sınırlı özgüllük ve duyarlılığa sahip olduğu için mide kanserinin tespiti için önerilmez. Bu yüzden, mide kanserinin erken tanısı için ek biyobelirteçlerin tanımlanması önemlidir(15).

2.2.10.MİDE KANSEERİNDE TEDAVİ

2.2.10.1.Cerrahi tedavi

Endoskopik rezeksiyon

Cerrahi veya endoskopik rezeksiyon mide kanseri küratif tedavide başlıca rol almaktadır.

Endoskopik rezeksiyon erken mide kanserinde lenf nodu metastazı için önemli risk faktörü olmadığı sürece kesin tedavi olabilir(293–295). Lenf nodu metastazı için risk faktörleri lenfovasküler invazyon, submukozal invazyon (T1b),kötü diferansiye, ülserasyon ve tümör boyutudur(293). Endoskopik submukozal diseksiyon (ESD) ve endoskopik mukozal rezeksiyon (EMR) olacak şekilde endoskopik rezeksiyon uygulanmaktadır. ESD tam rezeksiyon oranına ve daha az lokal nükse sahiptir(296,297). Erken mide kanserinde Asya ve Avrupa kılavuzları ESD önermektedir(294,298).

Cerrahi rezeksiyon

T1 lenf nodu pozitif (N+), lenf nodu durumuna bakılmaksızın T2-T4a ve uzak metastazı olmayan mide kanseri için ana tedavi cerrahi rezeksiyonla birlikte yeterli lenfadenektomi ve kemoterapidir. Cerrahi rezeksiyonda ana prosedürler distal gastroektomi veya total gastroektomi şeklinde uygulanmaktadır(299,300). Pilor fonksiyonunu koruyan proksimal gastroektomi endoskopik rezeksiyonun yeterli olmadığı durumlarda uygulanabilir (300–303).

Lenfadenektomi

D1 diseksiyonda tüm peri gastrik ve sol gastrik arter lenf düğümleri çıkarılır. D1 diseksiyonun amacı tutulum riski en yüksek olan lenf nodlarını temizlemektir. D2 diseksiyonda, splenik hiler lenf nodları ve çölyak aksı boyunca olanlar hariç, bütün D1 lenf nodları ve common hepatik arter, uygun hepatik ve splenik arter boyunca lenf düğümleri çıkarılmaktadır. D3 diseksiyon, bütün D2 lenf nodları ve iyi tanımlanmış abdominal para aortik ve hepatoduodenal lenf düğümlerini içeren diseksiyon bildirilmiştir(294).

2.2.10.2.Neoadjuvant ve perioperatif tedavi

Neoadjuvant tedavinin amacı erken mikroskopik yayılmayı ortadan kaldırmak, küratif rezeksiyon şansını artırmak ve tedavinin yanıt değerlendirilmesine olanak sağlamaktır. Lokal ileri mide kanserli hastalar için preoperatif ve perioperatif kemoterapi, Batıda ve Asya-Pasifik bölgesinde standart tedavi olmaktadır (Şekil 10) (304–308).

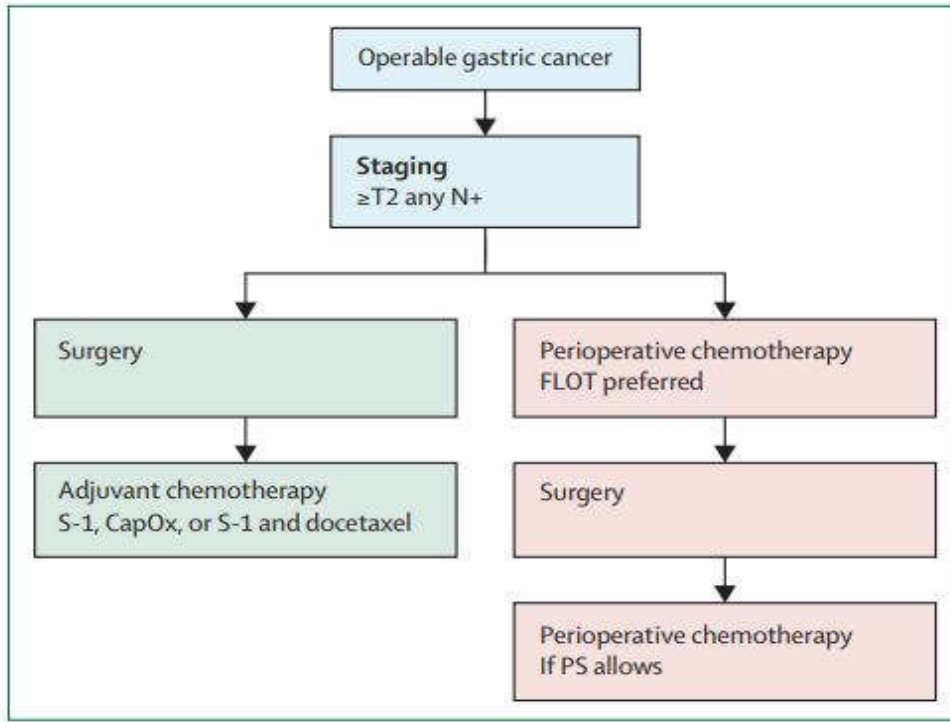
2.2.10.3.Preoperatif ve postoperatif radyoterapi

Postoperatif radyoterapinin perioperatife veya adjuvant kemoterapiye eklenmesi önerilmemektedir. Randomize kontrollü çalışmalar, radyoterapi eklenmesinin D1 ve ya D2 diseksiyonu ile birlikte yapılan gastroektomili hastalara göre daha iyi bir genel sağkalım sağlamadığını göstermiştir(309,310).

Lokal ileri mide kanserli hastalar için preoperatif radyoterapi ile perioperatif kemoterapi çalışmaları devam etmektedir(311,312)

2.2.10.4.Postoperatif adjuvant kemoterapi

Adjuvant kemoterapi kullanan Japonlar ve Güney Koreliler genel sağkalımda iyileşme olduğunu bildirmiştir. Adjuvant kemoterapi olarak floropirimidin bazlı S1 (tegafur, gimeracil ve oteracil kombinasyonu) ile monoterapi veya kapesitabin ile oksaliptatin veya S1 ile dosetaksel kullanılmaktadır. Asyalı hastalar için adjuvant kemoterapi standart bakım şekli olmuştur(313,314). Adjuvant kemoterapinin etkili olduğunu gösteren çalışmalarda, hastalara D2 diseksiyon yapılmıştır. Bunun aksine, Asyalı olmayan hastalarda yapılan adjuvant kemoterapi çalışmalarında sağkalımı iyileştirmedeği görülmüştür. Bunun nedeni hastalara D2 diseksiyonu içermeyen farklı cerrahi prosedürler uygulanmasıdır(315).



N+=node positive. FLOT=5-fluorouracil, folinic acid, oxaliplatin, and docetaxel. CapeOx=capecitabine and oxaliplatin. PS=performance status. *S-1 is a combination of tegafur, gimeracil, and oteracil.

Şekil 10: Perioperatif ve adjuvant tedavi algoritması(316).

2.2.10.5.Lokal ileri veya metastatik mide kanseri tedavisi

Birinci basamak tedaviler

Lokal ilerlemiş, rekürrens veya metastatik mide kanserli hastaların semptomlarının hafifletilmesi, yaşam kalitesinin ve sağkalımın iyileştirilmesi için sistemik tedaviler uygulanmaktadır. Birinci basamak tedavi rejimlerinde 2 sitotoksik ilaç kullanmasının başlıca nedeni düşük toksisiteleridir(317–320).ECOG Performans Durumuna (PS) uygun olan ve sık kontrollere gelebilen hastalar için birinci basamak tedavi rejimlerinde 3 sitotoksik ilaç kullanılabilir(321).

Mide kanseri hastalarında HER2 aşırı ekspresyonu pozitif olması durumunda birinci basamak kemoterapiye trastuzumab eklenmelidir (floropirimidin ve platin ile kombinasyon tercih edilir)(Şekil 11) (322).

HER2 aşırı ekspresyonu negatif olan ve PD-L1 ekspresyon olan mide kanseri hastaları için birinci basamak tedavi rejimi floropirimidin ile nivolumab ve oksaliplatin

içermektedir(323).HER2 aşırı negatif hastalar için tercih edilen diğer birinci basamak tedavi rejimi floropirimidin (florourasil ve ya kabesitabin) ile platin (oksalipatin veya sisplatin) kombinasyonudur(324–329).

İkinci ve sonraki basamak tedaviler

İkinci veya sonraki tedavi basamakları hastanın önceki tedaviye yanıtına ve performans durumu ile ilişkilidir (Şekil 12).İkinci veya sonraki basamak tedavi rejimlerinde ya Ramucirumab ile paklitaksel kombinasyonu ya da tek bir ajan olarak Ramucirumab kullanımı önerilir(330,331). Daha önce Transtuzumab bazlı tedavi almış HER2 pozitif mide kanserli hastalar için ikinci basamak tedavi olarak Fam-transtuzumab deruxtecan-nxki kullanımı önerilir(332).

İkinci basamak veya sonraki basamak tedavi rejimleri için tek ajanlı docetaxel (318,333), paklitaksel (334–336), ve irinotekan (317,334,337,338) tercih edilebilir. Birinci basamak tedavide FOLFİRİ kullanılan hastalar için ikinci basamakta da güvenle kullanılabilir(338–342)

PRINCIPLES OF SYSTEMIC THERAPY

Systemic Therapy for Unresectable Locally Advanced, Recurrent or Metastatic Disease (where local therapy is not indicated)

First-Line Therapy • Oxaliplatin is generally preferred over cisplatin due to lower toxicity.
Preferred Regimens • HER2 overexpression positive adenocarcinoma ^f □ Fluoropyrimidine (fluorouracil ^b or capecitabine) and oxaliplatin and trastuzumab ^a □ Fluoropyrimidine (fluorouracil ^b or capecitabine) and cisplatin and trastuzumab (category 1) ^{a,11} • HER2 overexpression negative ^f □ Fluoropyrimidine (fluorouracil ^b or capecitabine), oxaliplatin, and nivolumab (PD-L1 CPS ≥5) (category 1) ^{g,h,12} □ Fluoropyrimidine (fluorouracil ^b or capecitabine) and oxaliplatin ¹³⁻¹⁵ □ Fluoropyrimidine (fluorouracil ^b or capecitabine) and cisplatin ^{13,16-18}
Other Recommended Regimens • HER2 overexpression positive adenocarcinoma ^f □ Fluoropyrimidine (fluorouracil ^b or capecitabine) and cisplatin and trastuzumab ^a and pembrolizumab ^{g,h,19} □ Fluoropyrimidine (fluorouracil ^b or capecitabine) and oxaliplatin and trastuzumab ^a and pembrolizumab ^{g,h,19} • Fluorouracil ^{b,i} and irinotecan ^{j,20} • Paclitaxel with or without cisplatin or carboplatin ^{j,21-25} • Docetaxel with or without cisplatin ^{j,26-29} • Fluoropyrimidine ^{j,17,30,31} (fluorouracil ^b or capecitabine) • Docetaxel, cisplatin or oxaliplatin, and fluorouracil ^{b,j,32,33} • Docetaxel, carboplatin, and fluorouracil (category 2B) ^{j,34}
Useful in Certain Circumstances • HER2 overexpression negative ^f □ Fluoropyrimidine (fluorouracil ^b or capecitabine), oxaliplatin, and nivolumab (PD-L1 CPS <5) (category 2B) ^{g,h,12}

^a An FDA-approved biosimilar is an appropriate substitute for trastuzumab.

^b Leucovorin is indicated with certain fluorouracil-based regimens. Depending on availability, these regimens may be used with or without leucovorin. For important information regarding the leucovorin shortage, please see Discussion.

^f See Principles of Pathologic Review and Biomarker Testing (GAST-B*).

^g If no prior tumor progression while on therapy with a checkpoint inhibitor.

^h See NCCN Guidelines for Management of Immunotherapy-Related Toxicities†.

ⁱ Capecitabine may not be used interchangeably with fluorouracil in regimens containing irinotecan.

^j Trastuzumab should be added to first-line chemotherapy for HER2 overexpression positive adenocarcinoma. An FDA-approved biosimilar is an appropriate substitute for trastuzumab.

*Available online, in these guidelines, at NCCN.org. †To view the most recent version of these guidelines, visit NCCN.

Version 2.2022, 01/11/22 © National Comprehensive Cancer Network, Inc. 2022. All rights reserved.
The NCCN Guidelines® and this illustration may not be reproduced in any form without the express written permission of NCCN.

Şekil 11: Lokal ileri, rekürrens veya metastatik mide kanserinde birinci basamak sistemik tedavi(343).

PRINCIPLES OF SYSTEMIC THERAPY

Systemic Therapy for Unresectable Locally Advanced, Recurrent or Metastatic Disease (where local therapy is not indicated)

Second-Line or Subsequent Therapy
• Dependent on prior therapy and PS
Preferred Regimens
• Ramucirumab and paclitaxel (category 1) ³⁵
• Fam-trastuzumab deruxtecan-nxki for HER2 overexpression positive adenocarcinoma ³⁶
• Docetaxel (category 1) ^{28,29}
• Paclitaxel (category 1) ^{24,25,37}
• Irinotecan (category 1) ³⁷⁻⁴⁰
• Fluorouracil ^{b,i} and irinotecan ^{38,41,42}
• Trifluridine and tipiracil for third-line or subsequent therapy (category 1) ⁴³
Other Recommended Regimens
• Ramucirumab (category 1) ⁴⁴
• Irinotecan and cisplatin ^{14,45}
• Fluorouracil and irinotecan + ramucirumab ^{b,i,46}
• Irinotecan and ramucirumab ⁴⁷
• Docetaxel and irinotecan (category 2B) ⁴⁸
Useful in Certain Circumstances
• Entrectinib or larotrectinib for <i>NTRK</i> gene fusion-positive tumors ^{49,50}
• Pembrolizumab ^{g,h} for MSI-H or dMMR tumors ⁵¹⁻⁵³
• Pembrolizumab ^{g,h} for TMB high (≥10 mutations/megabase) tumors ⁵⁴
• Dostarlimab-gxly ^{g,h,k} for MSI-H or dMMR tumors ⁵⁵

^b Leucovorin is indicated with certain fluorouracil-based regimens. Depending on availability, these regimens may be used with or without leucovorin. For important information regarding the leucovorin shortage, please see Discussion.

^g If no prior tumor progression while on therapy with a checkpoint inhibitor.

^h See NCCN Guidelines for Management of Immunotherapy-Related Toxicities[†].

ⁱ Capecitabine may not be used interchangeably with fluorouracil in regimens containing irinotecan.

^k For patients whose cancer is progressing on or following prior treatment (that did not include a checkpoint inhibitor like PD-1i, PDL-1i, or CTLA4i) and who have no satisfactory alternative treatment options. Prior use of immuno-oncology therapy in these patients will make them ineligible for dostarlimab-gxly.

*Available online, in these guidelines, at NCCN.org. †To view the most recent version of these guidelines, visit NCCN.

Version 2.2022, 01/11/22 © National Comprehensive Cancer Network, Inc. 2022. All rights reserved.
The NCCN Guidelines[®] and this illustration may not be reproduced in any form without the express written permission of NCCN.

Şekil 12: Lokal ileri, rekürrens veya metastatik mide kanserinde ikinci basamak sistemik tedavi(343).

2.2.10.6.Mide kanserinde hedefe yönelik tedaviler

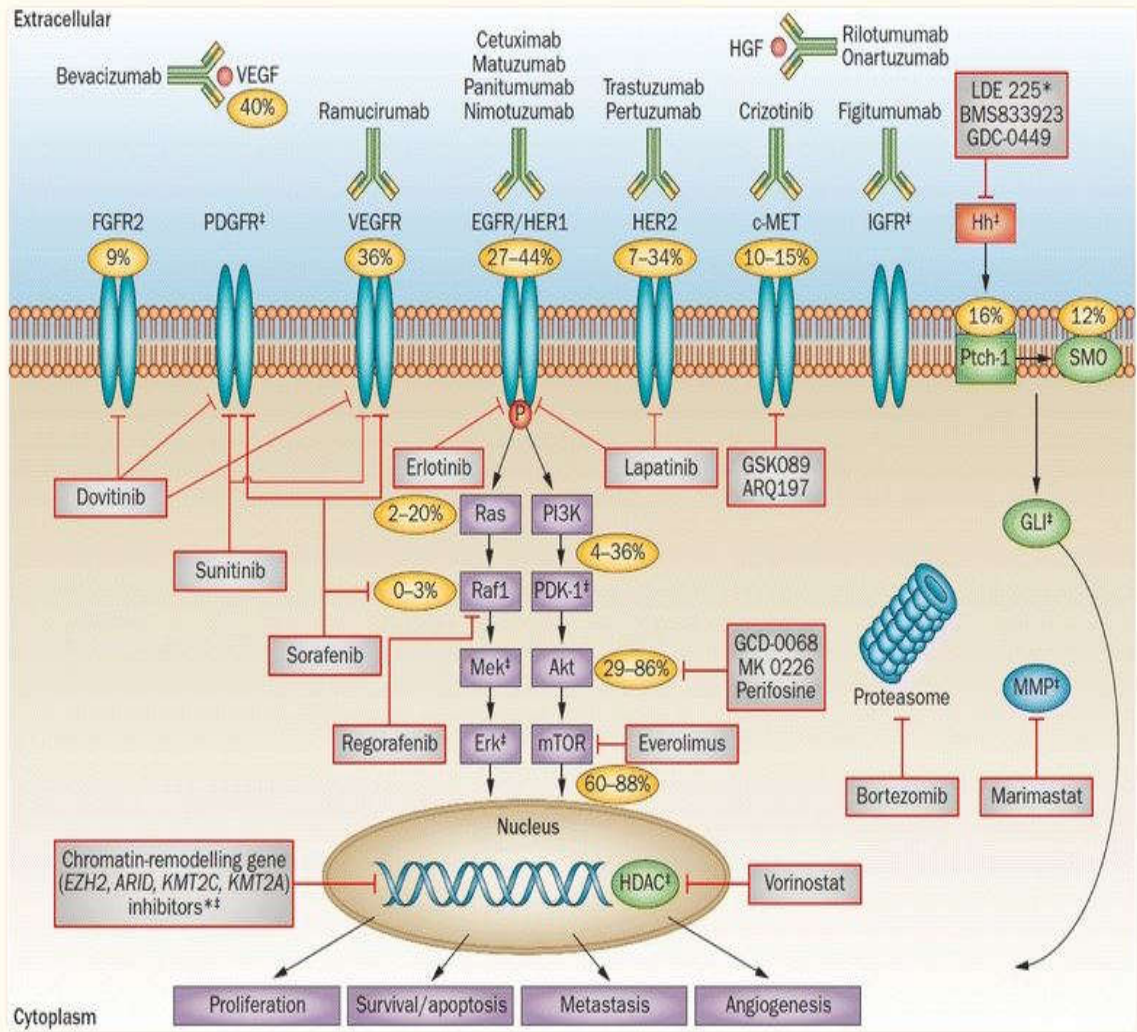
Biyobelirteç veya moleküler testler ileri evre, rekürrens veya metastatik mide kanserinin klinik yönetiminde ve hedefe yönelik tedavi seçiminde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle, ilk önce immunohistokimya (IHC), in situ hibridizasyon (ISH) ve hedeflenen PCR uygulanmalıdır. Sonraki aşamalarda HER2/ERBB2 amplifikasyonu, mikrosatellit instabilite (MSI) durumu, uyumsuzluk onarımı (MMR) eksikliği, programlanmış hücre ölümü ligandı-1 (PD-L1) ekspresyonu, tümör mutasyon yükü (TMB) ve nörotrofik tropomiyozin ile ilişkili kinaz (NTRK) gen füzyonlarının tanımlanması için yeni nesil dizileme (NGS) testi yapılmalıdır(343).

Biyobelirteçler ağırlıklı olarak dört tipi mevcuttur: Tanısal, prediktif, prognostik ve terapötik. Tanısal biyobelirteç erken hastalığı tespit etmek için noninvaziv belirteçtir. Prognostik biyobelirteç hastalığın olası seyri, hastanın sağkalımı ve tedavi sonuçları hakkında bilgi sağlar, ileri yönelik tedaviler için önerilerde bulunur. Prediktif biyobelirteç hedeflenen bir tedaviye yanıt verme veya vermeme olasılığı en yüksek hastaları tanımlamada kullanılabilir. Terapötik bir biyobelirteç ise kanser tedavisi için potansiyel hedeftir (Şekil 13) (344–346).

Trastuzumab

İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) aynı zamanda ERBB2 olarak da adlandırılmaktadır. Bu reseptör tirozin protein kinazdır. Mide kanserinde önemli biyobelirteç olup, tümör oluşumunda rol almaktadır(322).HER2 pozitif tümörler genellikle protein aşırı ekspresyonu ile ilişkili olup, tümör oluşumunda HER2 amplifikasyonu göstermektedir(347).

HER2 amplifikasyonu hücresel zarı protein aşırı ekspresyonu yaparak hücrenin malign özellikler kazanmasına zemin yaratmaktadır(348).Mide adenokarsinomu ve EGJ' in adenokarsinomlarında ilk önce immünohistokimya (İHC) ile değerlendirilmelidir. Sonuç alınamadığı durumlarda ise in situ hibridizasyon (İHS) ile HER2 amplifikasyonu değerlendirilmesi yapılmalıdır(349). Trastuzumab HER2 reseptörünü hedef alan monoklonal antikordur. HER2' in aşağı regülasyonuna neden olmaktadır. ToGA çalışmasında, HER2 aşırı ekspresyonu olan mide veya GEJ adenokarsinomlu hastalarda floropirimidin, platin ve trastuzumab kombinasyonu ile tek başına kemoterapi ile karşılaştırılmıştır. Trastuzumab kolu ile tedavi gören hastalarda genel sağkalımda (OS) düzelme saptanmıştır(322).



Şekil 13: Mide kanserinde sinyal yolu ve hedefe yönelik tedaviler(350). Yüzdeler hastalıkdaki genel moleküler özellikleri gösterir:FGFR2 amplifikasyonu (%9),VEGF/VEGFR aşırı ekspresyonu (%36-%40),EGFR amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu (%27-%44),HER2 amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu (%7-%34),c-MET amplifikasyonu (%10-%15),kRAS mutasyonu (%2-%20),Raf mutasyonu (%0-%3),PI3K mutasyonu (%4-%36),fosfo-Akt ekspresyonu (%29-%86),fosfo-mTOR ekspresyonu (%60-%88),PTCH1 aşırı ekspresyonu (%16),SMO aşırı ekspresyonu (%12),HER3 mutasyonları (%10,gösterilmemiştir).

*Mide kanserinde bu ajanların klinik çalışmaları bildirilmemiştir. ‡ Bu genler ve yollar için bilinen sayılar veya yüzdelar yoktur.

Kısaltmalar:EGFR,epidermal büyüme faktörü reseptörü; FGFR,fibroblast büyüme faktörü reseptörü; GLI,glioma ile ilişkili onkogen ailesi çinko parmak 1; HDAC,histon deasetilaz; HER,insan epidermal büyüme faktörü reseptörü; HGF,hepatosit büyüme faktörü; Hh,kirpi; IGFR,insulin benzeri büyüme faktörü reseptörü; MMP,matriks metalloproteinaz; mTOR,rapamisin'inin memeli hedefi; PDGFR,trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü; Ptch-1,protein yamalı homolog 1; Smo,yumuşatılmış; VEGF,vasküler endotelial büyüme faktörü; VEGFR,vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü

Trastuzumab deruxtecan

DESTINY çalışmasında, refrakter ortamda (iki veya daha fazla tedavi rejimi sonrası) kalan HER2 pozitif mide kanseri hastaları için yeni tedavi seçeneği sundu. Bu çalışmada trastuzumab deruxtecan (anti-HER2 antikoru ve topoizomeras-I inhibitöründen oluşan bir antikor-ilaç konjugatı) değerlendirildi. Çalışmanın sonucu olarak trastuzumab deruxtecan kullanımı medyan OS' nın 8,4 aydan 12,5 aya uzama sağladığı bildirilmiştir(351).

Ramucirumab

Mide kanseri patogeneğinde ve ilerlemesinde vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) rol almaktadır.Ramucirumab VEGF-2'ye bağlanan monoklonal antikordur. RAINBOW çalışmasında,kemoterapi sonrası progrese olmuş ileri evre mide ve GEJ kanseri hastalarında ramucirumab ile paklitaksel kombinasyonu tek başına paklitaksel ile karşılaştırılmışdır.RAINBOW çalışmasında,Ramucirumab ile paklitaksel kombinasyonu tedavisi alan hastaların genel sağkalımında anlamlı düzelme saptanmıştır(331).

Bevacizumab

VEGF'ye karşı monoklonal antikor olup,ileri evre tedavi edilmemiş mide kanseri hastalarında AVAGAST çalışması yapılmıştır.Kemoterapiye Bevacizumab eklenmesine rağmen OS'de iyileşme görülmemiştir.Bunun aksine,bevacizumab kolu alan hastalarda progresyonsuz sağkalım (PFS) ve genel yanıt oranında (ORR) iyileşme görülmüştür(352).

Pembrolizumab

Programlanmış hücre ölüm proteini 1 (PD-1) bağışıklık hücrelerinin üzerinde bulunmaktadır.PD-1 immun sistemini düzenleyerek immun kontrol noktası görevi yapmaktadır.Programlanmış hücre ölüm ligand 1 (PD-L1) PD-1 bağlanarak T hücre reseptör aracılı lenfosit proliferasyonu ve sitokin sekresyonu inhibisyon yolu ile immun yanıtı inhibe

etmektedir(353).IHC kullanılarak PD-L1 değeri değerlendirilir ve birleşik pozitiflik skoru (CPS) ≥ 1 olması durumunda PD-L1 pozitifliği tanımlanmaktadır.CPS,PD-L1 pozitif hücrelerin (tümör hücreleri, lenfosit ve makrofajlar) toplam sayısını canlı tümör hücrelerin toplam sayısına bölünmesinden alınan sayıyı 100'e çarparak bulunur(354).

Pembrolizumab bir monoklonal antikor olup,PD-1'in PD-L1'e bağlanmasını bloke etmektedir.Faz II klinik KEYNOTE-059 çalışmasına dayanarak önceki tedavilere rağmen progrese olan ileri evre mide kanseri tedavisi için Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (ABD FDA) tarafından onay almıştır(355).

Nivolumab

Nivolumab PD-1 reseptörü bloke eden bir monoklonal antikordur(356). Faz III çalışması olan ATTRACTION-2'de mide ve GEJ kanserleri tedavisinde nivolumabın etkinliği ve güvenilirliği değerlendirilmiştir. Nivolumab kolu plasebo koluna kıyasla OS'de anlamlı iyileşme göstermiştir(357).

Lapatinip

Geri dönüşümlü tirozin kinaz inhibitörü (TKİ) olan lapatinib EGFR'yi hedef almaktadır. Lapatinib hem HER1 hem de HER2 bloke eder.Faz III TyTAN çalışmasında HER2 pozitif mide kanserli hastalarda lapatinip etkinliği değerlendirildi. Bu çalışmada paklitaksel ve lapatinip grubu ile tek başına haftalık paklitaksel karşılaştırıldı. Lapatinip ve paklitaksel grubunda medyan OS 11.0 ay iken,sadece paklitaksel grubunda 8.9 ay saptanmıştır. PFS veya progresyon süresinde anlamlı fark saptanmamıştır. Yanıt oranı paklitaksel ve lapatinip grubunda daha yüksektir(358).

Regorafenib

Regorafenib VEGFR'nin oral inhibitörüdür.Bir faz II plasebo kontrollu çalışmada regorafenibin ile evre mide kanseri hastalarından etkinliği ve güvenliği değerlendirilmiştir. Regorafenib grubunda PFS'de anlamlı uzatılmış medyan saptanmıştır(359).

Sunitinib

Sunitinib VEGFR'nin oral tirozin kinaz inhibitörüdür.Sunitinibin etkinliğini ve güvenliğini araştırmak için bir faz II çalışması yapıldı.Bu çalışmada sunitinib ve dosetaksel ile tek başına dosetaksel karşılaştırıldı.Sunitinib ve dosetaksel grupta artmış objektif yanıt görüldü(360).

3.GEREC VE YÖNTEM

3.1.Veri çıkarma

GEO (Gene Expression Omnibus) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>),Ulusal Bioteknoloji Bilgi merkezi (NCBI) tarafından oluşturulan gen ekspresyon veri tabanıdır. Küresel araştırma kurumları tarafından sunulan yüksek verimli gen ekspresyon verilerini içermektedir.Bu çalışmada toplam 10 mRNA gen ekspresyon profili ham verileri GEO'dan elde olundu (GSE79973, GSE34942, GSE38749, GSE35809, GSE22377, GSE66222, GSE54129, GSE42252, GSE19826 ve GSE13911).Veri profilinden alınan toplam örnek sayısı 537 olup,bu örneklerden 177 normal mide doku örneği ve 360 mide kanseri örneği içermektedir. (Tablo 2, Tablo 3).Tüm mRNA profilleri GPL570 serisi platformuna (Affymetrix Human genome U113 Plus 2.0 Array) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, US) dayalıdır.

Tablo 2: Bu çalışmada kullanılan veri kümelerinin özellikleri gösterilmiştir.

Veri kümesi	GSE79973	GSE34942	GSE38749	GSE35809	GSE22377
Statü	2016	2014	2012	2012	2011
Platform	GPL570	GPL570	GPL570	GPL570	GPL570
Deney tipi	mikroarray	mikroarray	mikroarray	mikroarray	mikroarray
Ekspresyon tipi	mRNA	mRNA	mRNA	mRNA	mRNA
Normal doku	10	0	0	0	0
Kanserli doku	10	56	15	70	43
Toplam örnek sayısı	20	56	15	70	43

Tablo 3: Bu çalışmada kullanılan veri kümelerinin özellikleri gösterilmiştir.

Veri kümesi	GSE66222	GSE54129	GSE42252	GSE19826	GSE13911
Statü	2019	2017	2014	2010	2008
Platform	GPL570	GPL570	GPL570	GPL570	GPL570
Deney tipi	mikroarray	mikroarray	mikroarray	mikroarray	mikroarray
Ekspresyon tipi	mRNA	mRNA	mRNA	mRNA	mRNA
Normal doku	100	21	0	15	31
Kanserli doku	0	111	5	12	38
Toplam örnek sayısı	100	132	5	27	69

3.2.Diferansiyel olarak eksprese edilen genlerin (DEG) veri işleme

R istatistiksel analiz programı (sürüm 1.4.1106.0) kullanılarak normal mide doku örneği ile mide kanseri örneği arasındaki DEG'ler tespit edildi.Düzeltilmiş $P < 0.05$ değeri ve $\log FC > |1|$ seçildi.

R programında Volkan grafiği paketi DEG'leri görselleştirmek için kullanıldı.

3.3. Gen Ontolojisi (GO) ve Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) yol analizleri

Fonksiyonel zenginleştirme analizlerine benzer fonksiyonlara sahip genlerin haritalanmasını ve bir gen listesindeki biyolojik fenotiplerle ilişkilendirilmesi dahildir. GO analizi esas olarak Moleküler İşlev (MF), Biyolojik süreç (BP) ve Hücreler bileşenler içermektedir(361). Biyolojik yollar, hastalıklar, genomikler, kimyasallar ve ilaçlar hakkında kapsamlı verileri depolayan KEGG veri tabanı yaygın kullanılmaktadır(362). Bu çalışmada, R (Sürüm 1.4.1106.0) programında enrichR paketi kullanılarak DEG' in GO ve KEGG yol zenginleştirme analizi gerçekleştirilmiştir.

3.4.Hallmark ve Metabolitler

R istatistiksel analiz programında (sürüm 1.4.1106.0) enrichR paketi kullanılarak DEG' in zenginleştirme analizi olarak Hallmark ve Metabolit yolları elde edilmiştir.

3.5. Protein-Protein Etkileşimi (PPI)

Etkileşimli Genlerin Alınması için Arama Aracı (STRING) (<https://string-db.org/>) veri tabanı mevcuttur. STRING’ de kesme değeri için kullanılan birleşik puanı $>0,4$ (orta güven skoru) olarak ayarlanmıştır. Protein seviyesindeki gen adayları arasındaki potansiyel etkileşimleri tahmin etmek için STRING kullanıldı. Sonraki aşamada STRING’ den alınan veriler Cytoscape (sürüm 3.9.1) kullanarak PPI ağı görseli oluşturuldu.

3.6. İstatistiksel analiz

Geo üzerinden seçilen 2 farklı tip içeren 10 farklı deney seti analiz için indirilmiştir. Veriler R istatistiksel analiz programında Bioconductor ve Cran (The Comprehensive R Archive Network) ortamlarında bulunan affy, annotate, sva, enrichR, pathfindR paketleri kullanılarak analizleri gerçekleştirilmiştir. İndirilen veriler normalize edilerek, medyan yöntemi ile birleştirilmiştir. Veriler farklı çalışmalar da üretildiği için batch etkisi 'sva' paketi kullanılarak kaldırılmıştır. Elde edilen veri grubu normal ve kanser grupları olarak t-test ile gen ekspresyonları karşılaştırılmıştır. Katlanma oranı ve düzeltilmiş p değerleri ile eşik değerler seçilerek veriler sınırlandırılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olarak ekspresyonu değişen genlere gen zenginleştirme analizi uygulanmıştır. Elde edilen yollardan istatistiksel olarak anlamlı olanlar seçilerek tartışmaya alınmıştır. Yolak figürleri için pathfindR paketinin term_gene_graph fonksiyonu kullanılmıştır.

STRING (<https://string-db.org/>) protein seviyesindeki gen adayları arasındaki potansiyel etkileşimleri tahmin etmek için kullanıldı. STRING’ den alınan veriler Cytoscape (sürüm 3.9.1) kullanarak PPI ağı görseli oluşturuldu. PPI ağı analiz sonucunda elde olunan fcS yüksek olan ($\text{Log FC} > 2$) ve yüksek etkileşime sahip ilk 10 yukarı-regüle gen tartışılmaya alındı.

4.BULGULAR

4.1.Gen ekspresyon profili verileri

GEO veri tabanından toplam 10 mRNA ekspresyon veri kümesinin verilerini elde ettik.GSE79973, GSE34942,GSE38749, GSE35809, GSE22377,GSE66222,GSE54129, GSE42252,GSE19826 ve GSE13911 elde edilen ekspresyon mRNA veri kümesidir.Verit kümesi 177 normal mide doku örneği ve 360 mide adenokanseri örneği içermekte olup, toplam örnek sayısı 537'dir.

4.2.Diferansiyel olarak eksprese edilen genlerin (DEG) tanımlanması

Elde edilen 10 mRNA ekspresyon veri kümesinin ham verileri R istatistiksel analiz programı (sürüm 1.4.1106.0) aracılığı ile ilk basamakta verilerin indirilmesi işlemi yapıldı. İkinci basamakta verilerin birleştirilmesi uygulandı. Üçüncü aşamada ise verilerin okunması ve ekspresyon farkının tespiti yapıldı. 10 mRNA veri kümesi kesişimi sonucu 260 yukarı-regüle (Tablo 4A,4B ve 4C) ve 260 aşağı-regüle DEG elde olundu (Tablo 5A,5B ve 5C). Log FC >1 içeren DEG yukarı-regüle (Tablo 6) ve log FC <1 içeren DEG aşağı-regüle (Tablo 7) edilmiş genler olarak kabul edildi. Düzeltilmiş P değeri <0,05 hesaplanmıştır.

R yazılımı (sürüm 1.4.1106.0) ve Volkan grafiği kullanarak Log FC >2 yukarı-regüle ve log FC <2 aşağı-regüle içeren DEG görselleştirildi (Şekil 14).

Tablo 4A: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Yukarı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

DEG	Genlerin adı
Yukarı-regüle	NMU, LIF, PTTG1, MNDA, CXCL6, HOMER1, ADORA2B, CTSK, ASS1, HENMT1, AJUBA, TGFB1, CTSB, PSRC1, APOC1, ENC1, IFITM2, NME1, IFITM3, TNFSF4, TNFRSF11B, FBN1, UHRF1, PLEKHS1, SAC3D1, MYO1B, CST4, CDCA7, ZNF367, LMNB2, CDC6, TFF3, UBE2D1, PCOLCE, LMNB1, CTSB, VSNL1, FXYD5, KIF23, HMGB3, DPYSL3, CCN4, PAICS, PDGFRB, EPPK1, CEMIP, LOXL1, CENPF, RUVBL1, WDR43, CKS1B, ITGBL1, CORO1C, HMCN1, MMP1, AGO2, CCNA2, TEAD4, LAMP3, AQP1, SACS, CLDN2, IDO1, OIP5, MCM2, CPNE2, LPCAT1, NABP1, NCAPG, SHCBP1, CDH11, AEBP1, HOXA13, MYOF, C5AR1, TRIP6, SMC4, TYMS, ALYREF, RACGAP1, ISLR, CEBPB, MIR100HG, KIF11, ISG15, F12, PMAIP1, PRKX, LRP8, FOXM1, MAGEA12, CXCL8, IFITM1, HTRA1, THBS4, ONECUT2, COL4A2, RRM2, MELK.

Tablo 4B: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Yukarı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

DEG	Genlerin adı
Yukarı-regüle	MAD2L1, UPP1, COL18A1, LUM, SERPINB5, NA, CXCL11, C2CD4A, WNT5A, PCDHB14, LGALS1, KPNA2, ATAD2, RAI14, GUCY1A1, DKK1, EZH2, IGFBP7, PTGS2, CSE1L, IER5, COL5A1, IL32, CDCA5, CDKN3, MSH2, MMP9, KLHL7, SGO2, APOE, FCER1G, AURKA, PODXL, AMIGO2, KIF15, PPP1R1B, KIF18B, CDC25B, UBE2T, CDK1, OSR2, NUSAP1, RAD51AP1, TTK, HCAR3, C3, DTL, PUS7, S100A4, IFI6, GPRC5A, ZNF703, PKDCC, NNMT, S100A2, KIF20A, STIL, CXCL10, ZIC2, SPIN4, KIF4A, TRIM59, UBE2S, RAB31, SFRP2, ST6GAL1, NEK2, PLA1, SULF2, CENPW, CCL18, NFE2L3, GJB2, GREM1, DEPDC1B, TRIP13, GINS1, PBK, LY6E, COL3A1, CCNB1, LIPG, VCAN, KIF14, DLGAP5, CKS2, GGH, CLDN3, SPC25, THY1, CXCL9, BUB1B, BCL2A1, CDH3, MSLN, TPX2, GPNMB, SPARC, FAM83D, TMEM158.

Tablo 4C: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Yukarı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

DEG	Genlerin adı
Yukarı-regüle	NDC80, TNFAIP6, OLFM4, SPOCK1, HOXB7, CXCL1, SERPINH1, PRC1, COL12A1, CEACAM6, OLFML2B, PLA2G7, COL4A1, CT83, CDH17, CEP55, SLC39A10, ANLN, MMP7, CRISPLD1, UBE2C, TIMP1, HOXA10, FAP, CHI3L1, CLDN1, CLRN3, COL5A2, PLA2G2A, NUF2, MMP3, SNX10, MMP12, SPP1, TOP2A, MFAP2, PMEPA1, MEST, RARRES1, NID2, CLDN7, HOXC6, COL6A3, MAGEA6, ASPN, BGN, COL10A1, FN1, SFRP4, COL11A1, COL1A1, CST1, DENND4B, THBS2, CTHRC1, FNDC1, COL1A2, SULF1, INHBA.

Tablo 5A: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Aşağı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

DEG	Genlerin adı
Aşağı-regüle	CBLIF, GKN1, LIPF, GKN2, ATP4A, ESRRG, PGC, SOSTDC1, CHIA, KCNE2, PSCA, CPA2, MUCL3, SST, KRT20, LTF, AKR1B10, CXCL17, MT1M, TFF2, SCGB2A1, ANXA10, FAM3B, TMED6, HPGD, ADH1C, MUC5AC, ETNPPL, CLDN18, CAPN9, AZGP1, ALDH3A1, MFSD4A, CA2, CLIC6, MSMB, REG1A, SLC26A9, KCNJ16, DUOX2, GPR155, VSIG2, MAL, CHGA, MAP7D2, FCGBP, GC, LINC00261, GATA6-AS1, CYP2C18, PTPRZ1, TNFRSF17, DNER, C16orf89, TFF1, SULT1C2, KLK11, POU2AF1, CTSE, PIK3C2G, AKR1C2, LINC02381, MYRIP, ADTRP, JCHAIN, CA9, ADGRG2, TCN1, RDH12, ARL14, CAPN8, IGFBP2, AADAC, PKIB, LYPD6B, ALDH1A1, CAPN13, C6orf58, PSAPL1, CKMT2, IRX3, RASSF6, MUC6, LIFR, CKB, PBLD, CWH43, FBP2, SMIM24, ELAPOR1, SH3GL2, ANKRD36BP2, AKR7A3.

Tablo 5B: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Aşağı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

DEG	Genlerin adı
Aşağı-regüle	PDILT, UGT2B15, BCAS1, ACKR4, DEFA5, TMEM100, AQP4, CYP3A5, SLC16A7, AKR1C3, ALKAL2, ADH7, SSTR1, SLC2A12, SCARA5, PRDM16-DT, KCNJ15, CLCA1, MAMDC2, SULT1B1, CYP2C9, PIGR, SMIM6, REG3A, ST6GALNAC1, SCNN1B, ERO1B, APOBEC2, HYAL1, KIT, CXCL14, MT1F, MGAM, SPINK1, CSTA, RAB27A, TMEM220, NTN4, GPX3, VILL, FGD4, GHRL, PAIP2B, CYSTM1, SYTL5, CYP4X1, APOBEC1, PNLIPRP2, ADRB2, ANG, GPAT3, PLAC8, SCIN, XK, HOMER2, BEX5, SELENBP1, SYTL2, HEPACAM2, AMPD1, PLLP, UPK1B, SMIM5, ABCC5, MZB1, LRRC66, STYK1, BPIFB1, KLF4, ADH1B, DGKD, VSIG1, TMEM238L, DDX60, DEFA6, TENT5C, RNASE4, MT1H, PDGFD, IL1R2, GHR, ALDH6A1, MT1E, EPN3, ZNF385B, MLPH, CPA3, SOWAHA, EYA2, NA, CKM, SIGLEC11, MRAP2, MYOC.

Tablo 5C: Bütün diferansiyel eksprese genler 10 veri kümesinden elde edildi. Aşağı-regüle olan DEG gösterilmiştir.

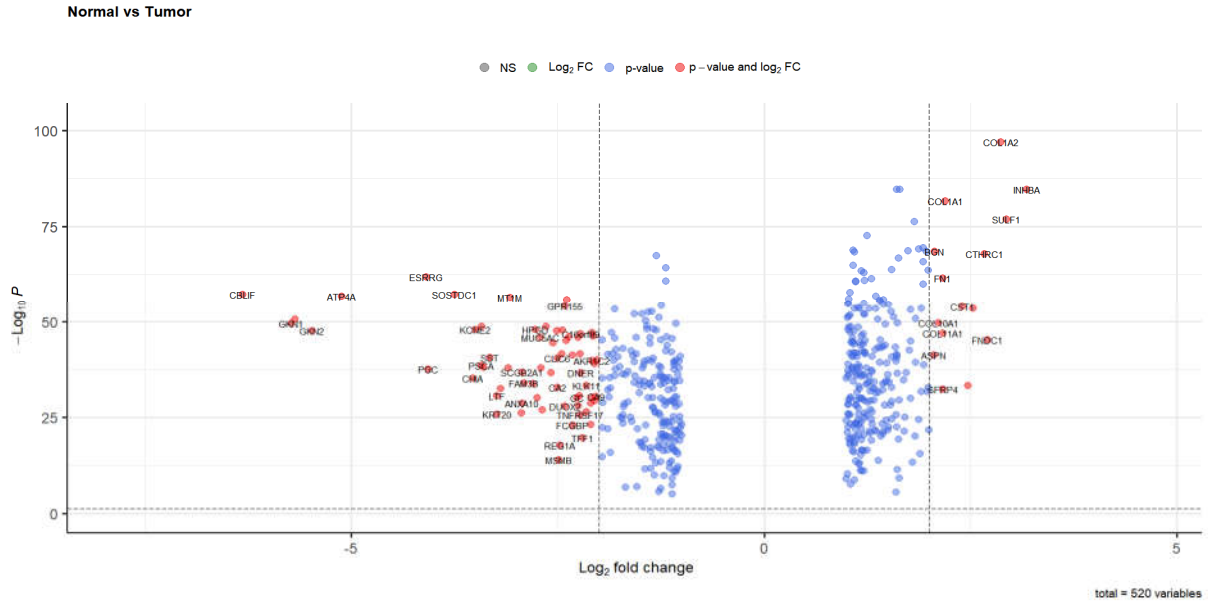
DEG	Genlerin adı
Aşağı-regüle	ECRG4, PLCXD3, HDC, SIDT2, DUOXA2, UBL3, ELOVL6, SGK1, CCKBR, SULT2A1, NA, DRD5, CPB1, RAB27B, OXCT1, FAM189A2, NOSTRIN, ACSM3, GALNT6, FAM3D, TPD52L1, MUC1, CNTD1, C9orf152, PXMP2, ELL2, MTTP, MEP1B, NR3C2, TMPRSS15, SBSPON, CYTIP, FA2H, NA, C1orf116, APLP1, MT1G, FAM20A, S100P, DPT, PRKACB, PDIA2, FAM107B, MT1HL1, SERPINA4, GRAMD1C, FOLR1, F13A1, RNF128, ATP4B, MT1X, SMIM14, CD36, NQO1, ADAM28, TMPRSS2, CHGB, C4orf19, LRRC31, UBE2QL1, PPP2R3A, NA, AKR1C1, ID4, FMO5, CLTRN, CYP2S1, P2RY14, SLC2A10, SCN1G, PTGR1, CNTN3.

Tablo 6: Log FC >2 olan yukarı-regüle 16 DEG

Gen	FcS	Gen	FcS
MAGEA6	2	CST1	2.4
ASPN	2.06	DENND4B	2.47
BGN	2.07	THBS2	2.53
COL10A1	2.11	CTHRC1	2.67
FN1	2.17	FNDC1	2.71
SFRP4	2.17	COL1A2	2.87
COL11A1	2.17	SULF1	2.94
COL1A1	2.2	INHBA	3.18

Tablo 7: Log FC <2 olan aşağı-regüle 67 DEG

Gen	FcS	Gen	FcS	Gen	FcS	Gen	FcS
ADGRG2	-2.02	CYP2C18	-2.24	MFSD4A	-2.51	LTF	-3.24
CA9	-2.04	GATA6-AS1	-2.25	ALDH3A1	-2.56	KRT20	-3.24
JCHAIN	-2.05	LINC00261	-2.25	AZGP1	-2.58	SST	-3.32
ADTRP	-2.05	GC	-2.27	CAPN9	-2.64	MUCL3	-3.40
MYRIP	-2.07	FCGBP	-2.32	CLDN18	-2.69	CPA2	-3.42
LINC02381	-2.08	MAP7D2	-2.32	ETNPPL	-2.70	PSCA	-3.43
AKR1C2	-2.08	CHGA	-2.37	MUC5AC	-2.71	KCNE2	-3.50
PIK3C2G	-2.09	MAL	-2.39	ADH1C	-2.75	CHIA	-3.53
CTSE	-2.10	VSIG2	-2.40	HPGD	-2.77	SOSDTC1	-3.75
POU2AF1	-2.10	GPR155	-2.41	TMED6	-2.80	PGC	-4.07
KLK11	-2.15	DUOX2	-2.41	FAM3B	-2.91	ESRRG	-4.09
SULT1C2	-2.15	KCNJ16	-2.44	ANXA10	-2.93	ATP4A	-5.12
TFF1	-2.20	SLC26A9	-2.45	SCGB2A1	-2.93	GKN2	-5.48
C16orf89	-2.22	REG1A	-2.47	TFF2	-2.94	LIPF	-5.68
DNER	-2.22	MSMB	-2.49	MT1M	-3.08	GKN1	-5.73
TNFRSF147	-2.23	CLIC6	-2.50	CXCL17	-3.10	CBLIF	-6.32
PTPRZ1	-2.23	CA2	-2.50	AKR1B10	-3.19		



Şekil 14: Volkan grafiği kullanılarak 520 DEG içerisinde yukarı-regüle ($\text{Log FC} > 2$) ve aşağı regüle ($\text{log FC} < -2$) olan DEG görselleştirildi. $\text{log FC} > 2$ olan INHBA, SULF1, COL1A2, FNDC1, CTHRC1, CST1, COL1A1, COL11A1, SFRP4, FN1 ve COL10A1, BGN, ASPN 13 DEG tespit edildi.

4.3. DEG'lerin fonksiyonel zenginleştirme analizleri

R istatistiksel analiz programında (sürüm 1.4.1106.0) enrichR paketi kullanılarak DEG zenginleştirme analizi yapıldı. Zenginleştirme analizi sonucu KEGG yolağı analizi, GO analizi, Hallmark ve Metabolit yolağı verileri elde olundu (Tablo 8, 9A, 9B, 9C, 9D, 9E, 10, 11).

GO analizi bir dizi biyolojik süreçte yer alan 520 kesişen gen (260 yukarı-regüle ve 260 aşağı-regüle gen) ortaya çıkarttı. Hücre dışı matris organizasyonu, hücre dışı yapı organizasyonu, dış kapsülleyici yapı organizasyonu ve hücre popülasyonu proliferasyonunun düzenlenmesi, kolajen fibril organizasyonu ve mitotik kardeş kromatit ayrımı GO yolağında önemli biyolojik süreçlerdir. Bu yollar genellikle yukarı-regüle DEG içermektedir.

DEG, Protein sindirimi ve emilimi, ECM-reseptör etkileşimi, İlaç metabolizması, IL-17 sinyal yolu, Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi ve Amoebiasis yolları içeren KEGG yolunda zenginleştirildi. Bu yollar genellikle yukarı-regüle DEG içermektedir.

KEGG, GO, Hallmark ve Metabolit yolağı figürleri için pathfindR paketinin term_gene_graph fonksiyonu kullanılarak görselleştirilmiştir (Şekil 15, 16, 17, 18).

Tablo 8: KEGG yol analiz sonucu önemli biyolojik süreçlerdir. Bu tabloda verilen yollarda genellikle yukarı-regüle olan genler rol almaktadır.

TERM	Düzeltilmiş P değeri
Protein digestion and absorption	1,96124E-06
Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	0,000442219
Retinol metabolism	0,000706147
ECM-receptor interaction	0,004545871
Drug metabolism	0,004545871
Gastric acid secretion	0,004545871
Mineral absorption	0,004545871
IL-17 signaling pathway	0,004545871
Cytokine-cytokine receptor interaction	0,006477804
Amoebiasis	0,007141276
Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor	0,024035111
Cell cycle	0,026677886
Transcriptional misregulation in cancer	0,026677886

Tablo 9A: GO analiz sonucu elde edilen veriler.

TERM	Düzeltilmiş P değeri
Extracellular matrix organization (GO:0030198)	3,90197E-11
Extracellular structure organization (GO:0043062)	2,01186E-09
External encapsulating structure organization (GO:0045229)	2,01186E-09
Regulation of cell population proliferation (GO:0042127)	1,13413E-08
Collagen fibril organization (GO:0030199)	5,36094E-08
Antimicrobial humoral immune response mediated by antimicrobial peptide (GO:0061844)	3,33093E-06
Cellular response to copper ion (GO:0071280)	4,19695E-06
Cellular response to cadmium ion (GO:0071276)	4,88734E-06
Cesponse to cadmium ion (GO:0046686)	8,8682E-06
Mitotic sister chromatid segregation (GO:0000070)	1,40902E-05
Response to copper ion (GO:0046688)	1,58264E-05
Cellular response to zinc ion (GO:0071294)	4,0877E-05
Cellular zinc ion homeostasis (GO:0006882)	7,58166E-05
Mitotic spindle organization (GO:0007052)	0,000110878
Retinoid metabolic process (GO:0001523)	0,000110878
Zinc ion homeostasis (GO:0055069)	0,000110878
Skeletal system development (GO:0001501)	0,000111898
Microtubule cytoskeleton organization involved in mitosis (GO:1902850)	0,000161028
Supramolecular fiber organization (GO:0097435)	0,000216702
Cytokine-mediated signaling pathway (GO:0019221)	0,000279091
Positive regulation of cellular metabolic process (GO:0031325)	0,000374833
Cellular response to cytokine stimulus (GO:0071345)	0,000374833
Epithelial structure maintenance (GO:0010669)	0,000443716
Maintenance of gastrointestinal epithelium (GO:0030277)	0,000443716
Prostanoid metabolic process (GO:0006692)	0,000443716
Regulation of exit from mitosis (GO:0007096)	0,000563867
Proteolysis (GO:0006508)	0,000563867
Ethanol metabolic process (GO:0006067)	0,000563867

TABLO 9B: GO analiz sonucu elde edilen diğer yolaklar.

TERM	Düzeltilmiş P değeri
Positive regulation of cell population proliferation (GO:0008284)	0,000563867
Skin development (GO:0043588)	0,000563867
Response to zinc ion (GO:0010043)	0,00060742
Regulation of cell migration (GO:0030334)	0,000671644
Prostaglandin metabolic process (GO:0006693)	0,000919557
Kinetochore organization (GO:0051383)	0,000976318
Positive regulation of cell motility (GO:2000147)	0,001371601
Monocarboxylic acid metabolic process (GO:0032787)	0,001506079
Positive regulation of cell migration (GO:0030335)	0,001707174
Mitotic spindle elongation (GO:0000022)	0,001987258
Mitotic spindle midzone assembly (GO:0051256)	0,001987258
Diterpenoid metabolic process (GO:0016101)	0,002472911
Retinoic acid metabolic process (GO:0042573)	0,002817952
Cellular component disassembly (GO:0022411)	0,002954608
Extracellular matrix disassembly (GO:0022617)	0,002954608
Mitotic chromosome condensation (GO:0007076)	0,003303325
Positive regulation of cell cycle process (GO:0090068)	0,003477341
Anaphase-promoting complex-dependent catabolic process (GO:0031145)	0,003477341
Regulation of angiogenesis (GO:0045765)	0,00439942
Positive regulation of epithelial cell proliferation (GO:0050679)	0,004549226
Primary alcohol catabolic process (GO:0034310)	0,004554547
Chemokine-mediated signaling pathway (GO:0070098)	0,00479747
Positive regulation of mitotic cell cycle Phase transition (GO:1901992)	0,006068571
Mitotic nuclear division (GO:0140014)	0,006086602
Cellular response to UV-A (GO:0071492)	0,006482934
Negative regulation of cell population proliferation (GO:0008285)	0,006904549
Chromosome condensation (GO:0030261)	0,006904549
Cellular response to chemokine (GO:1990869)	0,006904549
Endodermal cell differentiation (GO:0035987)	0,006904549

TABLO 9C: GO analiz sonucu elde edilen diğer yollar.

TERM	Düzeltilmiş P değeri
Cellular response to metal ion (GO:0071248)	0,006904549
Spindle assembly checkpoint signaling (GO:0071173)	0,007259006
Mitotic spindle assembly checkpoint signaling (GO:0007094)	0,007259006
Mitotic spindle checkpoint signaling (GO:0071174)	0,007259006
Positive regulation of cellular process (GO:0048522)	0,00801525
Ethanol oxidation (GO:0006069)	0,00801525
Negative regulation of mitotic metaphase/anaphase transition (GO:0045841)	0,008725578
Sister chromatid segregation (GO:0000819)	0,008725578
Mitotic cytokinesis (GO:0000281)	0,009997253
embryonic skeletal system development (GO:0048706)	0,009997253
Endoderm formation (GO:0001706)	0,011399088
Retina homeostasis (GO:0001895)	0,011399088
Mitotic metaphase plate congression (GO:0007080)	0,012259459
Response to UV-A (GO:0070141)	0,013614902
Ovarian follicle development (GO:0001541)	0,013614902
Regulation of mitotic cell cycle phase transition (GO:1901990)	0,014116977
Positive regulation of vascular endothelial growth factor production (GO:0010575)	0,014354708
Positive regulation of protein serine/threonine kinase activity (GO:0071902)	0,01490612
Neutrophil chemotaxis (GO:0030593)	0,015336859
Regulation of viral entry into host cell (GO:0046596)	0,016033483
Bone development (GO:0060348)	0,018222422
Creatine metabolic process (GO:0006600)	0,018642041
Hyaluronan biosynthetic process (GO:0030213)	0,018642041
Regulation of vascular endothelial growth factor production (GO:0010574)	0,018642041
Positive regulation of calcium ion transmembrane transport (GO:1904427)	0,018642041
Granulocyte chemotaxis (GO:0071621)	0,018642041
Cellular response to lipid (GO:0071396)	0,018642041
Epithelial cell migration (GO:0010631)	0,018946273

TABLO 9D: GO analiz sonucu elde edilen diğer yollarlar.

TERM	Düzeltilmiş P değeri
Negative regulation of cell-cell adhesion (GO:0022408)	0,018946273
Mucosal immune response (GO:0002385)	0,021198759
Cellular response to molecule of bacterial origin (GO:0071219)	0,024235289
Negative regulation of viral entry into host cell (GO:0046597)	0,02463475
Neutrophil migration (GO:1990266)	0,024697231
Cellular transition metal ion homeostasis (GO:0046916)	0,024839914
Mitotic spindle assembly (GO:0090307)	0,025768702
Innate immune response (GO:0045087)	0,025768702
Negative regulation of blood vessel morphogenesis (GO:2000181)	0,025768702
Antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II (GO:0019886)	0,027609952
Response to interferon-alpha (GO:0035455)	0,02877242
Mitotic cell cycle phase transition (GO:0044772)	0,030233111
Cellular response to lipopolysaccharide (GO:0071222)	0,030233111
Vitamin transport (GO:0051180)	0,030233111
Antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II (GO:0002495)	0,030312689
Regulation of wound healing (GO:0061041)	0,033276236
Negative regulation of cell migration (GO:0030336)	0,033276236
Glomerular filtration (GO:0003094)	0,033276236
Kinetochore assembly (GO:0051382)	0,033276236
Negative regulation of pathway-restricted SMAD protein phosphorylation (GO:0060394)	0,033276236
Progesterone metabolic process (GO:0042448)	0,033276236
Antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen (GO:0002478)	0,034942024
Regulation of cytokinesis (GO:0032465)	0,036493678
Calcium-independent cell-cell adhesion via plasma membrane cell-adhesion molecules (GO:0016338)	0,037269395

TABLO 9E: GO analiz sonucu elde edilen diğer yollar.

TERM	Düzeltilmiş P değeri
Eye morphogenesis (GO:0048592)	0,037269395
negative regulation of viral life cycle (GO:1903901)	0,037269395
Positive regulation of G2/M transition of mitotic cell cycle (GO:0010971)	0,037269395
Cell-cell adhesion via plasma-membrane adhesion molecules (GO:0098742)	0,037269395
Negative regulation of growth (GO:0045926)	0,037690993
Neutrophil degranulation (GO:0043312)	0,038610234
Positive regulation of calcium ion transport into cytosol (GO:0010524)	0,039331614
Positive regulation of release of sequestered calcium ion into cytosol (GO:0051281)	0,039331614
Negative regulation of angiogenesis (GO:0016525)	0,040597503
Regulation of attachment of spindle microtubules to kinetochore (GO:0051988)	0,040597503
Cellular response to prostaglandin stimulus (GO:0071379)	0,040597503
Renal filtration (GO:0097205)	0,040597503
Neutrophil activation involved in immune response (GO:0002283)	0,040597503
Retinol metabolic process (GO:0042572)	0,040825183
innate immune response in mucosa (GO:0002227)	0,040825183
Cellular response to oxygen-containing compound (GO:1901701)	0,040825183
Neutrophil mediated immunity (GO:0002446)	0,042618684
G2/M transition of mitotic cell cycle (GO:0000086)	0,042739073
Cell cycle G2/M phase transition (GO:0044839)	0,044884363
Cartilage development (GO:0051216)	0,045112313
Female gonad development (GO:0008585)	0,046831294
Regulation of mitotic cell cycle (GO:0007346)	0,047307418
Cellular divalent inorganic cation homeostasis (GO:0072503)	0,047307418
Regulation of Wnt signaling pathway (GO:0030111)	0,047307418

Tablo 10: Hallmark analiz sonucu elde edilen veriler.

TERM	Düzeltilmiş P değeri	TERM	Düzeltilmiş P değeri
Epithelial Mesenchymal Transition	1,78164E-33	Xenobiotic Metabolism	0,002566911
G2-M Checkpoint	2,14958E-16	Interferon Alpha Response	0,003035511
E2F Targets	2,14958E-16	Androgen Response	0,00352515
Mitotic Spindle	5,00646E-07	IL-6/JAK/STAT3 Signaling	0,005388519
Estrogen Response Late	5,00646E-07	Interferon Gamma Response	0,005869857
Coagulation	7,76E-07	Estrogen Response Early	0,013835676
KRAS Signaling Up	7,26933E-06	Glycolysis	0,013835676
Angiogenesis	1,74675E-05	KRAS Signaling Dn	0,013835676
Complement	0,00033565	UV Response Dn	0,028197952
TNF-alpha Signaling via NF-kB	0,000944365	Apical Junction	0,032207933
Myogenesis	0,000944365	Fatty Acid Metabolism	0,044571697
Inflammatory Response	0,002566911	Apoptosis	0,04756857

Tablo 11A: Metabolit analiz sonucu elde edilen veriler

TERM	Düzeltilmiş P değeri
Cadmium (HMDB03638)	0,001484417
NADPH (HMDB00221)	0,035028769
9-cis-Retinal (HMDB06218)	0,035028769
3,4-Dihydroxymandelaldehyde (HMDB06242)	0,035028769
Zinc (HMDB01303)	0,035028769
Retinoic acid (HMDB01852)	0,035028769
Androsterone (HMDB00031)	0,035028769
NAP (HMDB00217)	0,035028769
Acetaldehyde (HMDB00990)	0,035028769
TG(16:0/16:0/18:0)[iso3] (HMDB05357)	0,035028769
TG(16:0/16:0/20:0)[iso3] (HMDB05358)	0,035028769
TG(16:0/16:0/16:1(9Z))[iso3] (HMDB05359)	0,035028769
TG(16:0/16:0/18:1(9Z))[iso3] (HMDB05360)	0,035028769
TG(16:0/16:0/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05361)	0,035028769
TG(16:0/16:0/18:2(9Z,12Z))[iso3] (HMDB05362)	0,035028769
TG(16:0/16:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05363)	0,035028769
TG(16:0/18:0/18:0)[iso3] (HMDB05365)	0,035028769
TG(16:0/18:0/20:0)[iso6] (HMDB05366)	0,035028769
TG(16:0/18:0/18:1(9Z))[iso6] (HMDB05367)	0,035028769
TG(16:0/18:0/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05368)	0,035028769
TG(16:0/18:0/18:2(9Z,12Z))[iso6] (HMDB05369)	0,035028769
TG(16:0/18:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05370)	0,035028769
TG(16:0/20:0/20:0)[iso3] (HMDB05371)	0,035028769
TG(16:0/20:0/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05372)	0,035028769
TG(16:0/20:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05373)	0,035028769
TG(16:0/16:1(9Z)/18:0)[iso6] (HMDB05374)	0,035028769
TG(16:0/16:1(9Z)/20:0)[iso6] (HMDB05375)	0,035028769
TG(16:0/16:1(9Z)/16:1(9Z))[iso3] (HMDB05376)	0,035028769
TG(16:0/16:1(9Z)/18:1(9Z))[iso6] (HMDB05377)	0,035028769
TG(16:0/16:1(9Z)/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05378)	0,035028769
TG(16:0/16:1(9Z)/18:2(9Z,12Z))[iso6] (HMDB05379)	0,035028769
TG(16:0/16:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05380)	0,035028769

Tablo 11B: Metabolit analiz sonucu elde edilen veriler

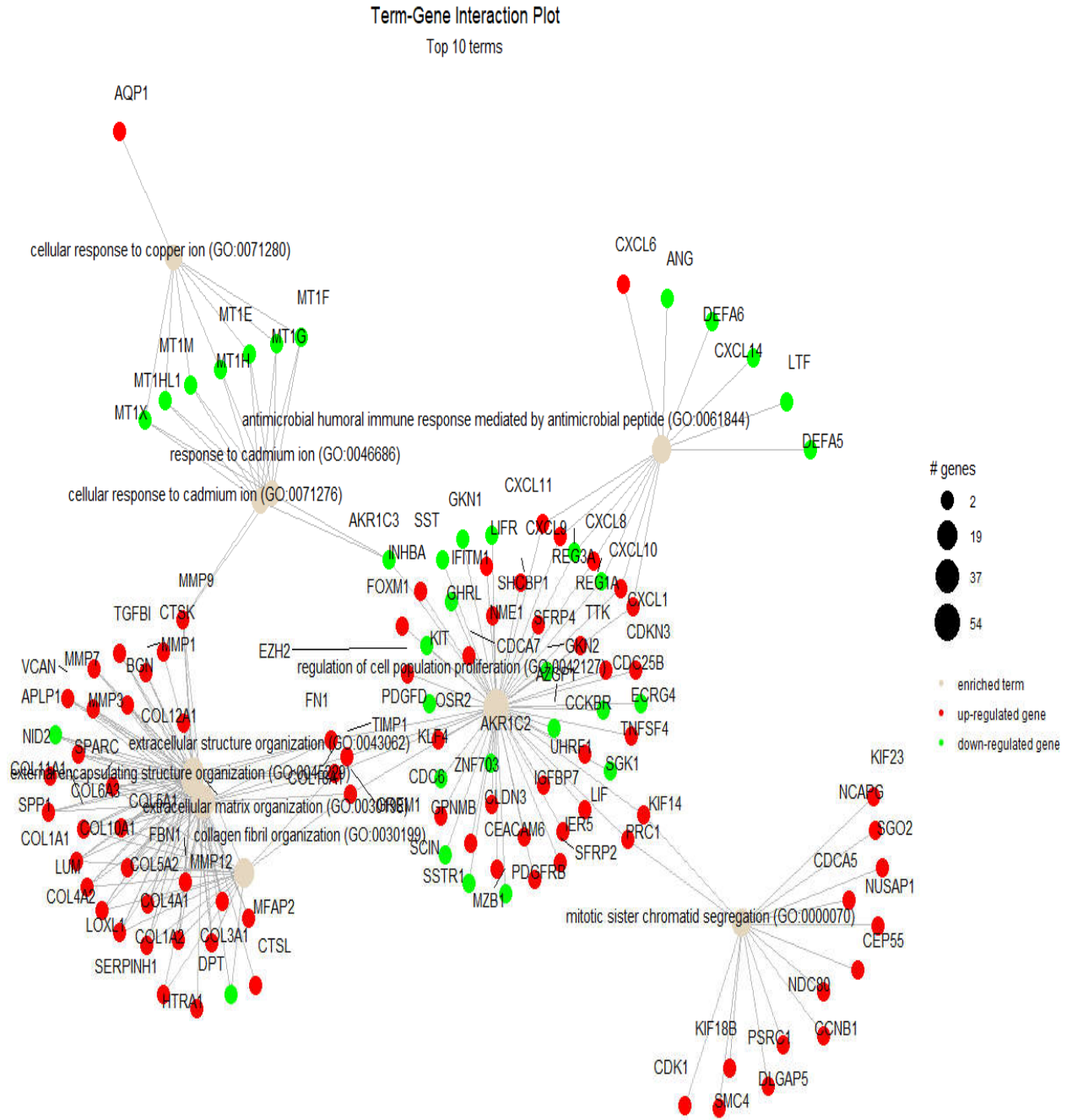
TERM	Düzeltilmiş P değeri
TG (16:0/18:1(9Z) /20:0) [iso6] (HMDB05381)	0,035028769
TG (16:0/18:1(9Z) /18:1(9Z)) [iso3] (HMDB05382)	0,035028769
TG(16:0/18:1(9Z)/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05383)	0,035028769
TG(16:0/18:1(9Z)/18:2(9Z,12Z))[iso6] (HMDB05384)	0,035028769
TG(16:0/18:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05385)	0,035028769
TG(16:0/20:1(11Z)/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05386)	0,035028769
TG(16:0/20:1(11Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05387)	0,035028769
TG(16:0/18:2(9Z,12Z)/20:0)[iso6] (HMDB05388)	0,035028769
TG(16:0/18:2(9Z,12Z)/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05389)	0,035028769
TG(16:0/18:2(9Z,12Z)/18:2(9Z,12Z))[iso3] (HMDB05390)	0,035028769
TG(16:0/18:2(9Z,12Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05391)	0,035028769
TG(16:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05392)	0,035028769
TG(18:0/18:0/18:0) (HMDB05393)	0,035028769
TG(18:0/18:0/20:0)[iso3] (HMDB05394)	0,035028769
TG(18:0/18:0/18:1(9Z))[iso3] (HMDB05395)	0,035028769
TG(18:0/18:0/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05396)	0,035028769
TG(18:0/18:0/18:2(9Z,12Z))[iso3] (HMDB05397)	0,035028769
TG(18:0/18:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05398)	0,035028769
TG(18:0/20:0/20:0)[iso3] (HMDB05399)	0,035028769
TG(18:0/20:0/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05400)	0,035028769
TG(18:0/20:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05401)	0,035028769
TG(18:0/18:1(9Z)/20:0)[iso6] (HMDB05402)	0,035028769
TG(18:0/18:1(9Z)/18:1(9Z))[iso3] (HMDB05403)	0,035028769
TG(18:0/18:1(9Z)/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05404)	0,035028769
TG(18:0/18:1(9Z)/18:2(9Z,12Z))[iso6] (HMDB05405)	0,035028769
TG(18:0/18:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05406)	0,035028769
TG(18:0/20:1(11Z)/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05407)	0,035028769
TG(18:0/20:1(11Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05408)	0,035028769
TG(18:0/18:2(9Z,12Z)/20:0)[iso6] (HMDB05409)	0,035028769
TG(18:0/18:2(9Z,12Z)/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05410)	0,035028769
TG(18:0/18:2(9Z,12Z)/18:2(9Z,12Z))[iso3] (HMDB05411)	0,035028769
TG(18:0/18:2(9Z,12Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05412)	0,035028769
TG(18:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05413)	0,035028769
TG(20:0/20:0/20:0) (HMDB05414)	0,035028769

Tablo 11C: Metabolit analiz sonucu elde edilen veriler.

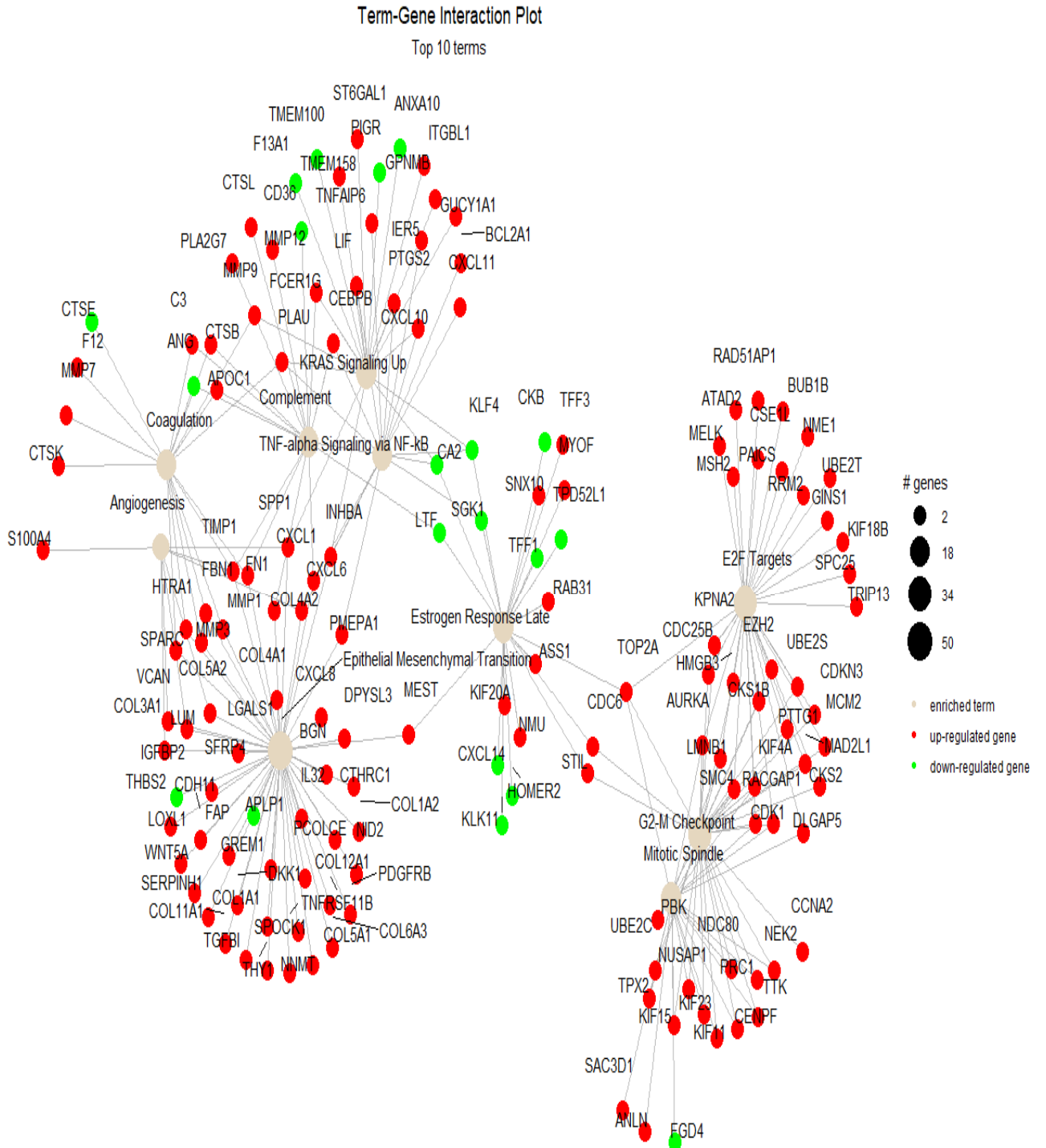
TERM	Düzeltilmiş P değeri
TG(20:0/20:0/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05415)	0,035028769
TG(20:0/20:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05416)	0,035028769
TG(20:0/20:1(11Z)/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05418)	0,035028769
TG(20:0/20:1(11Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05419)	0,035028769
TG(20:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05420)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:0/18:0)[iso3] (HMDB05421)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:0/20:0)[iso6] (HMDB05422)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:0/18:1(9Z))[iso6] (HMDB05423)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:0/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05424)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:0/18:2(9Z,12Z))[iso6] (HMDB05425)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05426)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/20:0/20:0)[iso3] (HMDB05427)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/20:0/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05428)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/20:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05429)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/16:1(9Z)/18:0)[iso3] (HMDB05430)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/16:1(9Z)/20:0)[iso3] (HMDB05431)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/16:1(9Z)/18:1(9Z))[iso3] (HMDB05433)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/16:1(9Z)/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05434)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/16:1(9Z)/18:2(9Z,12Z))[iso3] (HMDB05435)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/16:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05436)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:1(9Z)/20:0)[iso6] (HMDB05437)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:1(9Z)/18:1(9Z))[iso3] (HMDB05438)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:1(9Z)/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05439)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:1(9Z)/18:2(9Z,12Z))[iso6] (HMDB05440)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05441)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/20:1(11Z)/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05442)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/20:1(11Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05443)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:2(9Z,12Z)/20:0)[iso6] (HMDB05444)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:2(9Z,12Z)/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05445)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:2(9Z,12Z)/18:2(9Z,12Z))[iso3] (HMDB05446)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/18:2(9Z,12Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05447)	0,035028769
TG(16:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05448)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/20:0/20:0)[iso3] (HMDB05449)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/20:0/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05450)	0,035028769

Tablo 11D: Metabolit analiz sonucu elde edilen veriler.

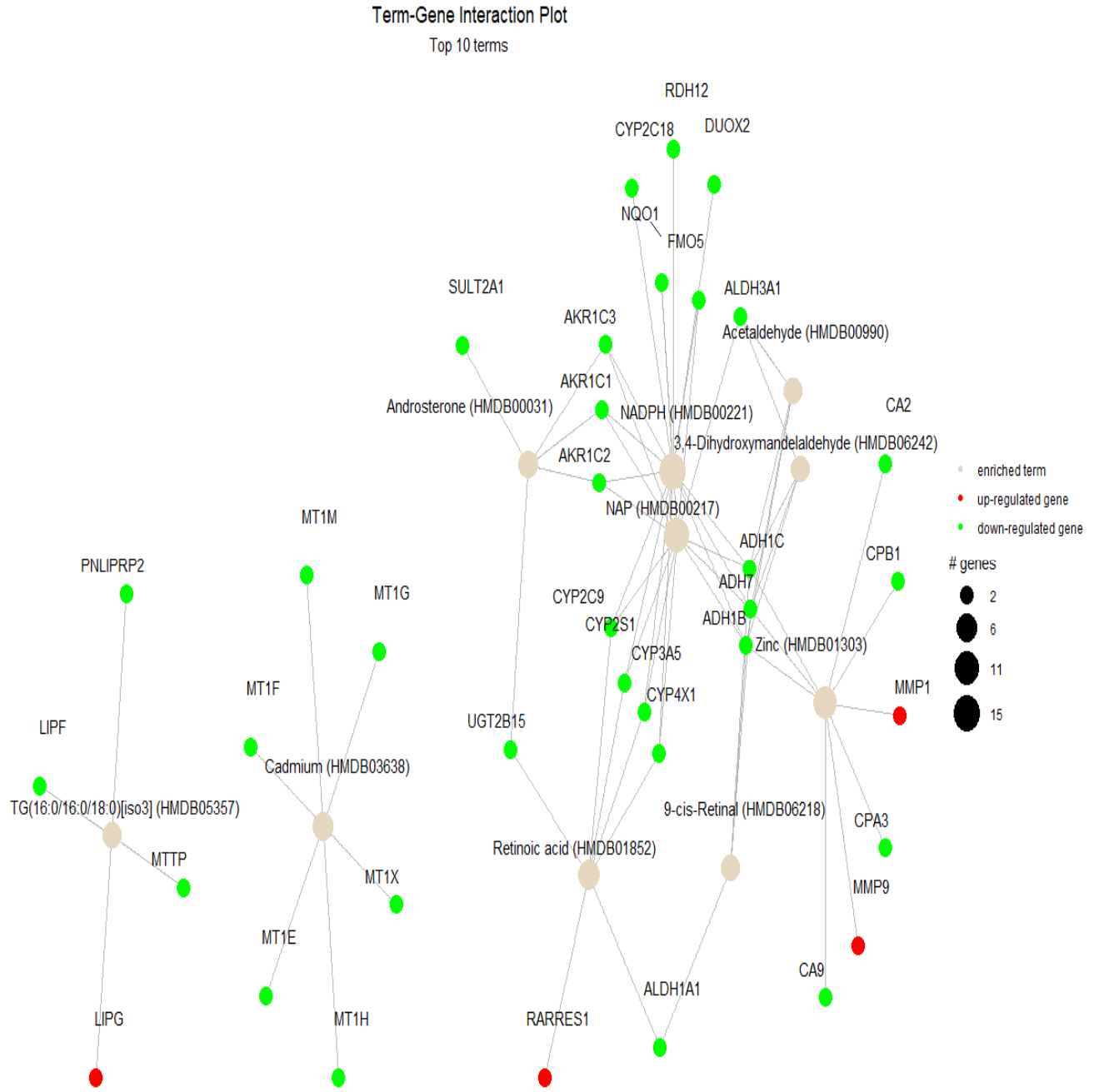
TERM	Düzeltilmiş P değeri
TG(18:1(9Z)/20:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05451)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/18:1(9Z)/20:0)[iso3] (HMDB05452)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/18:1(9Z)/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05454)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/18:1(9Z)/18:2(9Z,12Z))[iso3] (HMDB05455)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/18:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05456)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/20:1(11Z)/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05457)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/20:1(11Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05458)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/18:2(9Z,12Z)/20:0)[iso6] (HMDB05459)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/18:2(9Z,12Z)/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05460)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/18:2(9Z,12Z)/18:2(9Z,12Z))[iso3] (HMDB05461)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/18:2(9Z,12Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05462)	0,035028769
TG(18:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05463)	0,035028769
TG(20:1(11Z)/20:1(11Z)/20:1(11Z)) (HMDB05464)	0,035028769
TG(20:1(11Z)/20:1(11Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05465)	0,035028769
TG(20:1(11Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05466)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/20:0/20:0)[iso3] (HMDB05467)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/20:0/20:1(11Z))[iso6] (HMDB05468)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/20:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05469)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/20:1(11Z)/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05470)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/20:1(11Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso6] (HMDB05471)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/18:2(9Z,12Z)/20:0)[iso3] (HMDB05472)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/18:2(9Z,12Z)/20:1(11Z))[iso3] (HMDB05473)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/18:2(9Z,12Z)/18:2(9Z,12Z)) (HMDB05474)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/18:2(9Z,12Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05475)	0,035028769
TG(18:2(9Z,12Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))[iso3] (HMDB05476)	0,035028769
TG(20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)) (HMDB05478)	0,035028769
Trilaurin (HMDB11188)	0,035028769
(5Z,8Z,11Z,13E)-(15S)-15-Hydroperoxyicosa-5,8,11,13-tetraenoate (HMDB04244)	0,035212443



Şekil 16: GO yolağında term-gen etkileşim grafiği. Hücre dışı matris organizasyonu, hücre dışı yapı organizasyonu, dış kapsülleyici yapı organizasyonu ve hücre popülasyonu proliferasyonunun düzenlenmesi, kolajen fibril organizasyonu ve mitotik kardeş kromatit ayrımı önemli biyolojik süreçlerdir. Bu yolaklarda genellikle yukarı-regüle olan genler rol almaktadır.



Şekil 17: Hallmark yolağında term-gen etkileşim grafiği



Şekil 18: Metabolit yolağında term-gen etkileşim grafiği

4.4.PPI ağ inşası ve analizi

16 yukarı-regüle (log FC > 2) ve 67 aşağı-regüle (log FC < 2) olan toplamda 83 DEG arasındaki protein etkileşimi tahmin etmek için STRING veri tabanı kullanıldı (Tablo 11A, 11B, 11C, 11D). STRING’ de Birleşme puanı > 0.4 seçildi. STRING’ de alınan veriler 56 düğüm ve 226 kenardan oluşmaktadır (Şekil 19). Cytoscape kullanılarak 56 düğümlü ve 226 kenarlı DEG’ in PPI ağı oluşturuldu (Şekil 20). Cytoscape tarafından PPI ağında 14 yukarı-regüle gen seçildi. Bu genlerden yüksek derece bağlantıya sahip olup, log FC > 2 olan ve fcS en yüksek INHBA, SULF1, COL1A2, CTHRC1, THBS2, COL1A1, COL11A1, SFRP4, FN1, COL10A1 isimli ilk 10 DEG tartışmaya alınmıştır.

Tablo 11A: Protein-protein etkileşimini tahmin etmek için STRING’ de verinin işlenmesi uygulandı. Bu veriler toplamda 83 DEG (16 yukarı-regüle ve 67 aşağı-regüle olan DEG) etkileşiminden elde edildi.

1.Düğüm	2.Düğüm	Birleşme Puanı	1.Düğüm	2.Düğüm	Birleşme Puanı
ADH1C	CYP2C18	0.418	GC	CA2	0.602
ADH1C	AKR1B10	0.525	GC	AZGP1	0.574
ADH1C	ALDH3A1	0.885	GC	FN1	0.439
AKR1B10	ADH1C	0.525	GIF	LTF	0.508
AKR1B10	ALDH3A1	0.643	GIF	LIPF	0.423
AKR1C2	ALDH3A1	0.553	GIF	GKN2	0.450
ALDH3A1	AKR1B10	0.643	GIF	ATP4A	0.469
ALDH3A1	AKR1C2	0.553	GIF	GC	0.503
ALDH3A1	ADH1C	0.885	GIF	GKN1	0.527
ANXA10	CTSE	0.421	GIF	PGC	0.572
ASPN	COL1A1	0.657	GIF	TFF2	0.682
ASPN	FNDC1	0.611	GKN1	GIF	0.527
ASPN	COL1A2	0.525	GKN1	CAPN9	0.920
ASPN	COL10A1	0.483	GKN1	TFF2	0.589
ASPN	FN1	0.400	GKN1	TFF1	0.577
ASPN	THBS2	0.552	GKN1	PGC	0.507
ASPN	COL11A1	0.657	GKN1	MUC5AC	0.453
ASPN	SFRP4	0.765	GKN1	LIPF	0.581

Tablo 11B: Protein-protein etkileşimini tahmin etmek için STRING’ de verinin işlenmesi uygulandı. Bu veriler toplamda 83 DEG (16 yukarı-regüle ve 67 aşağı-regüle olan DEG) etkileşiminden elde edildi.

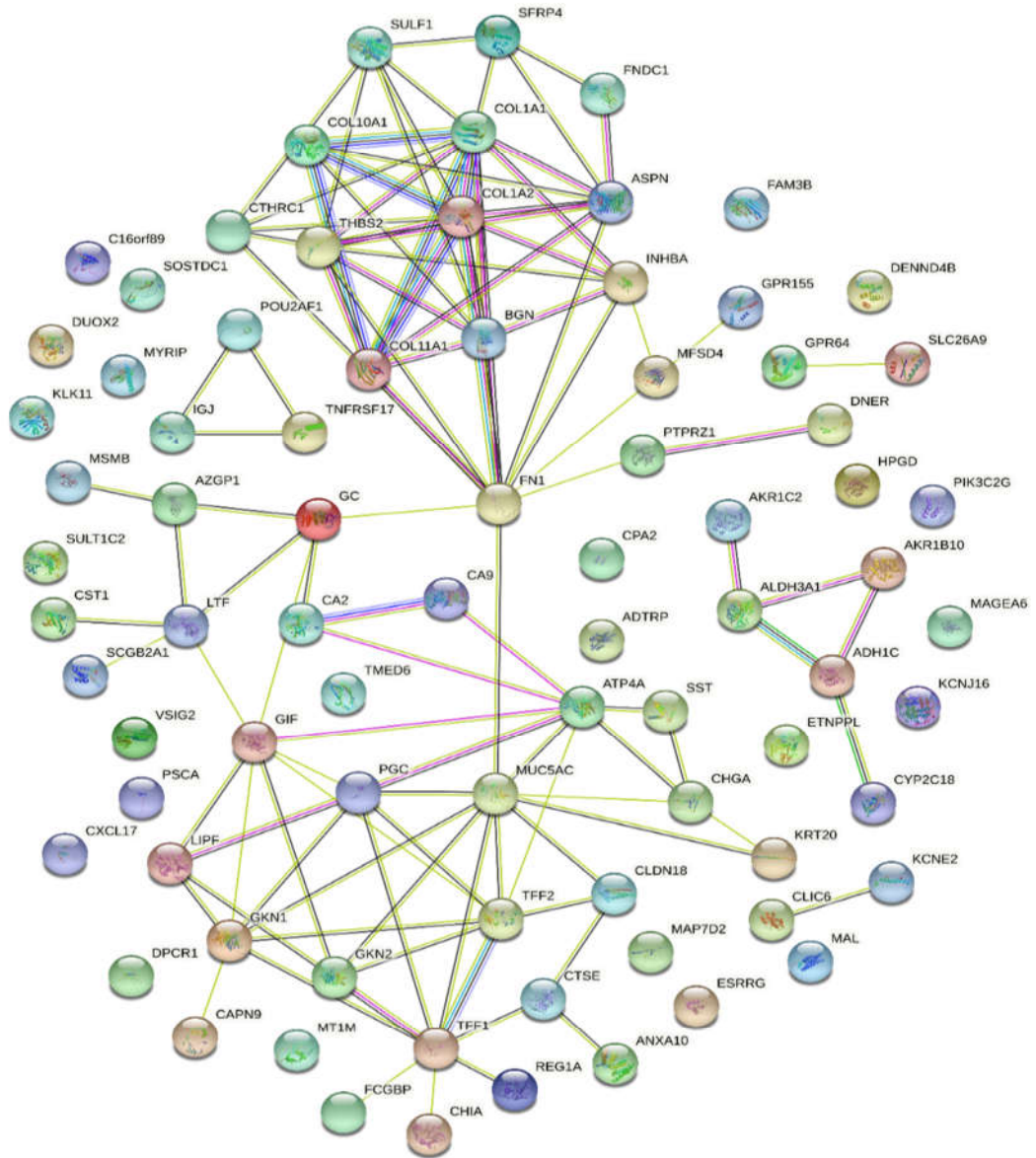
1.Düğüm	2.Düğüm	Birleşme Puanı	1.Düğüm	2.Düğüm	Birleşme Puanı
ATP4A	CHGA	0.678	GKN2	GIF	0.450
ATP4A	GIF	0.469	GKN2	TFF2	0.769
ATP4A	CA9	0.418	GKN2	TFF1	0.988
ATP4A	PGC	0.418	GKN2	MUC5AC	0.434
ATP4A	TFF2	0.429	GKN2	LIPF	0.474
ATP4A	MUC5AC	0.450	GPR155	MFSD4	0.470
ATP4A	CA2	0.646	GPR64	SLC26A9	0.484
ATP4A	SST	0.671	IGJ	TNFRSF17	0.873
AZGP1	LTF	0.493	IGJ	POU2AF1	0.732
AZGP1	MSMB	0.467	INHBA	COL1A1	0.427
AZGP1	GC	0.574	INHBA	COL1A2	0.410
BGN	COL1A1	0.847	INHBA	BGN	0.415
BGN	INHBA	0.415	INHBA	FN1	0.425
BGN	SULF1	0.443	INHBA	THBS2	0.425
BGN	COL1A2	0.874	INHBA	MFSD4	0.665
BGN	COL10A1	0.436	KCNE2	CLIC6	0.440
BGN	COL11A1	0.556	KRT20	MUC5AC	0.582
BGN	THBS2	0.646	KRT20	CHGA	0.682
BGN	FN1	0.825	LIPF	GIF	0.423
CA2	ATP4A	0.646	LIPF	GKN2	0.474
CA2	CA9	0.414	LIPF	PGC	0.420
CA2	GC	0.602	LIPF	GKN1	0.581
CA9	ATP4A	0.418	LTF	CST1	0.407
CA9	CA2	0.414	LTF	AZGP1	0.493
CAPN9	GKN1	0.920	LTF	SCGB2A1	0.504
CHGA	KRT20	0.682	LTF	GIF	0.508
CHGA	MUC5AC	0.517	LTF	GC	0.685
CHGA	ATP4A	0.678	MFSD4	INHBA	0.665
CHGA	SST	0.897	MFSD4	FN1	0.562
CHIA	TFF1	0.410	MFSD4	GPR155	0.470

Tablo 11C: Protein-protein etkileşimini tahmin etmek için STRING’ de verinin işlenmesi uygulandı. Bu veriler toplamda 83 DEG (16 yukarı-regüle ve 67 aşağı-regüle olan DEG) etkileşiminden elde edildi.

1.Düğüm	2.Düğüm	Birleşme Puanı	1.Düğüm	2.Düğüm	Birleşme Puanı
CLDN18	CTSE	0.411	MSMB	AZGP1	0.467
CLDN18	MUC5AC	0.481	MUC5AC	KRT20	0.582
CLDN18	TFF2	0.509	MUC5AC	CLDN18	0.481
CLIC6	KCNE2	0.440	MUC5AC	CHGA	0.517
COL10A1	COL1A1	0.523	MUC5AC	ATP4A	0.450
COL10A1	COL1A2	0.511	MUC5AC	TFF2	0.700
COL10A1	BGN	0.436	MUC5AC	TFF1	0.953
COL10A1	ASPN	0.483	MUC5AC	GKN2	0.434
COL10A1	COL11A1	0.550	MUC5AC	FN1	0.479
COL11A1	COL1A1	0.819	MUC5AC	PGC	0.600
COL11A1	COL1A2	0.954	MUC5AC	GKN1	0.453
COL11A1	BGN	0.556	PGC	GIF	0.572
COL11A1	COL10A1	0.550	PGC	ATP4A	0.418
COL11A1	FN1	0.519	PGC	TFF2	0.526
COL11A1	THBS2	0.603	PGC	TFF1	0.413
COL11A1	ASPN	0.657	PGC	LIPF	0.420
COL1A1	INHBA	0.427	PGC	GKN1	0.507
COL1A1	SULF1	0.478	PGC	MUC5AC	0.600
COL1A1	SFRP4	0.492	POU2AF1	TNFRSF17	0.807
COL1A1	COL10A1	0.523	POU2AF1	IGJ	0.732
COL1A1	CTHRC1	0.538	PTPRZ1	DNER	0.470
COL1A1	ASPN	0.657	PTPRZ1	FN1	0.525
COL1A1	THBS2	0.659	REG1A	TFF1	0.402
COL1A1	COL11A1	0.819	SCGB2A1	LTF	0.504
COL1A1	BGN	0.847	SFRP4	COL1A1	0.492
COL1A1	FN1	0.949	SFRP4	SULF1	0.498
COL1A1	COL1A2	0.999	SFRP4	FNDC1	0.425
COL1A2	COL1A1	0.999	SFRP4	ASPN	0.765
COL1A2	INHBA	0.410	SLC26A9	GPR64	0.484
COL1A2	SULF1	0.587	SST	CHGA	0.897
COL1A2	CTHRC1	0.482	SST	ATP4A	0.671
COL1A2	COL10A1	0.511	SULF1	COL1A1	0.478

Tablo 11D: Protein-protein etkileşimini tahmin etmek için STRING’ de verinin işlenmesi uygulandı. Bu veriler toplamda 83 DEG (16 yukarı-regüle ve 67 aşağı-regüle olan DEG) etkileşiminden elde edildi.

1.Düğüm	2.Düğüm	Birleşme Puanı	1.Düğüm	2.Düğüm	Birleşme Puanı
COL1A2	ASPN	0.525	SULF1	THBS2	0.417
COL1A2	THBS2	0.823	SULF1	BGN	0.443
COL1A2	BGN	0.874	SULF1	CTHRC1	0.484
COL1A2	COL11A1	0.954	SULF1	SFRP4	0.498
COL1A2	FN1	0.986	SULF1	COL1A2	0.587
CST1	LTF	0.407	TFF1	REG1A	0.402
CTHRC1	COL1A1	0.538	TFF1	TFF2	0.915
CTHRC1	SULF1	0.484	TFF1	CHIA	0.410
CTHRC1	COL1A2	0.482	TFF1	PGC	0.413
CTHRC1	THBS2	0.410	TFF1	CTSE	0.428
CTHRC1	FN1	0.411	TFF1	FCGBP	0.481
CTSE	CLDN18	0.411	TFF1	GKN1	0.577
CTSE	TFF1	0.428	TFF1	MUC5AC	0.953
CTSE	ANXA10	0.421	TFF1	GKN2	0.988
CYP2C18	ADH1C	0.418	TFF2	CLDN18	0.509
DNER	PTPRZ1	0.470	TFF2	GIF	0.682
FCGBP	TFF1	0.481	TFF2	ATP4A	0.429
FN1	COL1A1	0.949	TFF2	PGC	0.526
FN1	INHBA	0.425	TFF2	GKN1	0.589
FN1	COL1A2	0.986	TFF2	MUC5AC	0.700
FN1	BGN	0.825	TFF2	GKN2	0.769
FN1	CTHRC1	0.411	TFF2	TFF1	0.915
FN1	ASPN	0.400	THBS2	COL1A1	0.659
FN1	GC	0.439	THBS2	INHBA	0.425
FN1	MUC5AC	0.479	THBS2	SULF1	0.417
FN1	COL11A1	0.519	THBS2	COL1A2	0.823
FN1	PTPRZ1	0.525	THBS2	BGN	0.646
FN1	MFSD4	0.562	THBS2	CTHRC1	0.410
FN1	THBS2	0.791	THBS2	FN1	0.791
FNDC1	SFRP4	0.425	THBS2	ASPN	0.552
FNDC1	ASPN	0.611	THBS2	COL11A1	0.603
GC	LTF	0.685	TNFRSF17	POU2AF1	0.807
GC	GIF	0.503	TNFRSF17	IGJ	0.873



Şekil 19: STRING' de 83 DEG (16 yukarı-regüle olan log FC> 2) ve (67 aşağı-regüle olan log FC <2) arasında etkileşim. STRING analizinden elde edilen veri 56 düğüm ve 226 kenardan oluşmaktadır.

5.TARTIŞMA

Mide kanseri yüksek prevalansa ve mortaliteye sahip olan kanserlerden biridir (9),(363–365). Mide kanseri hastaların çoğu tanı anında ileri evrede tespit edilmesinin nedeni tanı ve tedavi etkilerinin yetersiz olmasıdır(75,365). Bu nedenle güvenilir, hassas ve spesifik biyobelirteçler bulunması önemlidir. Bu çalışmada önemli genleri ve yolları analiz etmek için kullanılan biyoinformatik yöntemi gelecek vadetmektedir. Mide kanserinin teşhis ve tedavisinde kullanılabilecek yeni ipuçları sağlayabilir.

10 mRNA veri profilinde mide kanseri örnekleri ile normal mide dokusu arasında kesişen 520 DEG (260 yukarı-regüle gen ve 260 aşağı-regüle) belirledik. KEGG zenginleştirme analiz sonucu kesişen DEG' ler Protein sindirimi ve emilimi, ECM-reseptör etkileşimi, İlaç metabolizması, IL-17 sinyal yolu, Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi ve Amoebiasis yolağı içinde önemli ölçüde zenginleştirildiğini gördük. Ayrıca GO analiz sonucu kesişen DEG çoğunlukla hücre dışı matris organizasyonu, hücre dışı yapı organizasyonu, dış kapsülleyici yapı organizasyonu ve hücre popülasyonu proliferasyonunun düzenlenmesi, kolajen fibril organizasyonu ve mitotik kardeş kromatit ayrımında rol oynadığı tespit edilmiştir. Kesişen DEG' lerin önemli ana yollarını ECM-reseptör etkileşimi, Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi ve Amoebiasis yolağı içerdiği tanımlanmıştır. Bu zenginleştirilmiş yollar mide kanseri başlangıcının ve progresyonunun moleküler mekanizması hakkında fikir vermektedir. Bu nedenle mide kanserinde yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesinde yararlı olabilir.

Son zamanlarda, farklı kanser türleri için tanı ve tedavide kullanılacak biyobelirteçleri bulmak için biyoinformatik analiz kullanılmaktadır(16). Örneğin, Tan, Jig ve Wang entegre biyoinformatik analiz kullanarak prostat kanseri için biyobelirteçleri analiz etmiştir. Çalışma sonucunda BZRAP1-AS1 yeni biyobelirteç olarak tanımlamıştır (366).

Bu çalışmada, R (sürüm 1.4.1106.0) analiz aracı ile 177 normal mide dokusu ile 360 mide kanser örneği kullanarak Log FC> 1 olan 260 yukarı-regüle ve log FC <1 olan 260 aşağı-regüle DEG elde edildi. Log FC> 2 olan genler Volkan grafiği ile görselleştirildi. Sonrasında Log FC> 2 olan 16 yukarı-regüle DEG tespit edildi. Bu genleri doğrulamak için log FC> 2 ve log FC <2 olan sırasıyla 16 yukarı-regüle ve 67 aşağı-regüle toplam 83 DEG önemli protein etkileşimini saptamak için STRING veri tabanı kullanıldı. Cytoscape' de, STRING analiz sonucunda alınan 56 düğümlü ve 226 kenarlı DEG' den oluşan PPI ağı oluşturuldu. Elde edilen 14 yukarı-regüle genlerden yüksek etkileşime sahip, log FC>2 olan INHBA, SULF1, COL1A2, CTHRC1, THBS2, COL1A1, COL11A1, SFRP4, FN1 ve COL10A1 10 DEG tespit edilerek tartışmaya alındı.

İnhibin- β A (INHBA), transforme edici büyüme faktörü β süper ailesine ait bir ligandır (367). INHBA, aktivin A olarak bilinen disülfid bağlı homodimer oluşturur (368,369). Aktivin A birçok biyolojik süreçlerde rol almaktadır. En önemli rolü hücre farklılaşmasının düzenlenmesidir. Ayrıca, hematopoez, organogenez, embriyogenez ve yara iyileşmesi gibi süreçlere dahil olmaktadır. Yumurtalık, prostat, plasenta ve testisteki hücre farklılaşmasını düzenler (370–380). Mide kanseri (381), kolon kanseri (382–384) ve pankreas kanseri (385) gibi çeşitli kanser türlerinde hücre proliferasyonu ile ilişkilidir. INHBA'nın mide kanserinde rolü birçok çalışmada bildirilmiştir. INHBA mide kanseri örneklerinde yüksek oranda ekspresye edildiği (386–388) ve anormal şekilde metilendiği (389) tespit edilmiştir. INHBA'nın yüksek ekspresyonunu önemli ölçüde daha kötü 5 yıllık sağkalım ile ilişkilendirildi (390,391). Bir çalışma INHBA gen inhibisyonu TGF- β sinyal yolunu engelleyerek mide kanseri hücre göçünü ve invazyonunu engelleyebileceğini rapor edilmiştir (137).

Sülfataz 1 (SULF1) Heparin sülfat 6-O endosülfataz olup, 6-O-sülfat gruplarını Heparin sülfattan uzaklaştırmaktadır. Heparin sülfat proteoglikanlar (HSPG) ise hücre dışı matristeki hücre sinyallemede önemli rol oynamaktadır. SULF1 HSPG'ni değişmesine neden olarak HSPG ile ilgili sinyal transdüksiyonlarında değişiklikler ile sonuçlanır. SULF1'in disregülasyonu, hücre büyümesi ve karsinogenez üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir (392,393). SULF1 ve SULF2 birçok insan kanserlerinin patogeneğinde rol almaktadır. Keun Hur ve ark. çalışmasında SULF1 proteinin yüksek ekspresyonu, mide kanseri hastalarında daha kötü OS ve yüksek nüks oranları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Mide kanseri hastalarında yapılan çok değişkenli analiz sonucunda SULF1'in bağımsız bir prognostik ve lenf nodu metastazı prediktif faktörü olduğunu rapor edilmiştir (394).

Kolajen üçlü sarmal tekrarı içeren -1 (CTHRC1) hücre dışı matriks (ECM) proteini (395) olup, farklı salgılama yollarında çeşitli hücre içi ve hücre dışı matrislerle etkileşim göstermektedir (396,397). CTHRC1 en önemli etkileşimlerinden biri ligandlara bağlanarak kolajen promotörünün aktivitesini artırmaktır. Bunun sonucunda ise kolajen matris birikimini sınırlar, hücre göçünü teşvik eder, böylece vasküler yeniden şekillenmede rol oynayabilir (398). CTHRC1, TGF- β ve Çentik yollarını düzenleyerek M2 makrofajlarını artırır ve yara iyileşmesini hızlandırır (399). Çoklu patofizyolojilerde rol oynayan CTHRC1'in dikkate değer bir etkisi olarak, CTHRC1'in yüksek ekspresyonunun, tümör yayılımı, invazyonu, adhezyonunun pozitif düzenlenmesi yoluyla tümör oluşumunu ve gelişimi gösterilebilir (400). CTHRC1'in HIF-1 α / CXCR4 sinyal yolu aracılığı ile mide kanserinde tümör metastazını teşvik ettiği gösterilmiştir (401). Lina Gu, Lei Liu ve ark, yaptığı çalışmada, CTHRC1'in yüksek

ekspresyonu çok değişkenli analiz sonucunda mide kanseri hastalarında hem OS' ni hem de hastalıksız sağkalım için bağımsız bir prognostik faktör olduğu rapor edilmiştir(402).

Kolajen kanser hücrelerinin büyümesi ile ilişkili olabilir ve yapı iskelesi sağlayabilir. Kanser hücrelerinin göçünü indükleyebilir(403). Tip I kolajen kemik, tendon, kornea ve dermiste bol miktarda mevcuttur. Heterotrimer yapısına sahip olup,2 zincir kolajen tip I alfa 1 (COL1A1) ve 1 zincir kolajen tip I alfa 2'den (COL1A2) oluşmaktadır.COL1A1 ve COL1A2'nin yukarı regülasyonu tümör invazyonu ve progresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir(404,405).Kolorektal kanseri ve meme kanserinde COL1A2'nin yukarı regüle olduğu bulunmuştur(406,407).Bazı çalışmalarda COL1A2 geni mide kanseri prognozunda rol oynamadığı rapor edilmiştir (408,409).Bunun aksine Dong Li ve ark,COL1A2 geni mide kanseri prognozu ile ilişkili olduğunu göstermiştir(410). Epitelyal yumurtalık kanseri hastalarının asit sıvısında normal periton sıvısına kıyasla COL1A1 yükseldiğini ve COL1A1 epitelyal yumurtalık hücrelerinin göçünü ve invazyonunu organize etmektedir(411). Mide kanseri hastalarında COL1A1 ve COL1A2 geni kötü klinik sonuçlar ile ilişkili olduğunu göstermişler(412).

COL10A1 kolajen genleri ailesine dahildir.COL10A1 yukarı regülasyonu mide kanserinde anlamlı derecede daha kötü sağkalımla ilişkili olduğu gösterilmiştir(413).

Kolorektal (414), pankreas (415), yumurtalık kanseri (416) ve mide kanseri gibi farklı kanserlerde kolajen tip XI alfa 1 zinciri (COL11A1)yukarı regüle olduğu tespit edilmiştir.COL11A1 geni midedeki malign ve premalign lezyonlarında tanısal biyobelirteç olarak kullanılabilir(417,418). COL11A1 geni mide kanserinde hücre büyümesinden ve invazyonundan sorumlu genleri düzenleyebilir ve bu özelliği nedeni ile gelecekteki araştırmalarda potansiyel terapötik biyobelirteç olabilir(419).

Hücre-hücre ve hücre-matris etkileşimleri ile ilişkili olan trombospondin 2 (THBS2) trombospondin ailesine aittir. Trombospondinler yara iyileşmesi, anjiyogenez ve inflamatuvar yanıt gibi çeşitli fonksiyonlara sahip glikoproteinlerdir. THBS2 geni hücre adezyonu ve migrasyonunda rol oynayabilir. Muhtemelen tümör büyümesi ve anjiyogenezi inhibe edilmesi için kullanılan biyobelirteç olabilir. Akciğer adenokarsinomu olan hastalarda THBS2 aşırı ekspresyonu daha kötü sağkalım göstermiştir(420). THBS2 kolorektal kanserinde prognostik biyobelirteç olabilir (421) ve THBS2 pankreas kanserinde spesifik tanısal ve bağımsız prognostik bir belirteç olduğu gösterilmiştir(422).Normal mide dokusuna kıyasla mide kanseri dokusunda THBS2 gen ekspresyonu anlamlı derecede düşük olduğunu ve THBS2'nin mide kanseri hastalarında yukarı regüle olması daha iyi prognozla ilişkili olduğunu göstermişler(423).

Salgılanan kıvrım ilişkili protein 4 (SFRP4) salgılanan kıvrım ilişkili protein (SFRP) ailesinin bir üyesidir. (424). SFRP hücrelerde Wnt aktivitesini bloke ettiği düşünülmektedir(425). Wnt yolu hücre proliferasyonu, farklılaşması, migrasyon, apoptoz, kök hücre kendini yenilemesinde rol almaktadır(426). Bununla birlikte, anormal Wnt sinyalizasyonunun tümör gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(427,428). Çalışmamızda SFRP' nin bir aile üyesi olan SFRP4'ün, mide kanserinde önemli ölçüde yüksek ekspresyonunu tespit ettik. SFRP4'ün yüksek ekspresyonunun hücre canlılığını ve proliferasyonunu ile ilişkili olup, hücre apoptozunu inhibe edebileceği ve hücre döngüsünü düzenleyebileceği bildirilmiştir(429). SFRP ekspresyonunun promotör metilasyon ile düzenlendiği gösterilmiştir(425,430). Haojie Li ve ark, yaptığı çalışmada SFRP4'ün azalmış metilasyonu, mide kanserinde aşırı ekspresyonu ile ilgili mekanizmayı açıklayabilir. Wnt sinyal inhibitörü olarak rol oynayan diğer SFRP üyelerinin aksine, SFRP4'ün Wnt yolunun aktivasyonunu teşvik edebileceğini tespit etmiştir(429). Tüm bu sonuçlar, SFRP4'ün mide kanseri tedavisi için kullanılabilecek yeni bir biyobelirteç olabilir.

Kolorektal (431) ve pankreas kanseri (432) hastalarında SFRP4 yüksek ekspresyonu olanlar SFRP4 aşağı regüle olanlara kıyasla daha kötü bir prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Pengcheng ve ark. yaptığı çalışma sonucunda, SFRP4'in yüksek ekspresyonunun mide kanserinde 5 yıllık OS oranının %39.81 ile daha kötü bir prognoz ile ilişkisini rapor edilmiştir. Ayrıca, Pengcheng ve ark. SFRP4 yüksek ekspresyonu ile pozitif PD-L1 ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğunu tespit etmiştir.(433). SFRP4 yüksek ekspresyonu mide kanseri hastalarında muhtemelen pozitif PD-L1 ekspresyonu ile ilişkili olup, kötü bir prognoza neden olabilir(434,435). SFRP4 yüksek ekspresyonu mide kanseri hastalarında kötü prognoz ile anlamlı derecede ilişkili olup, bağımsız bir prognostik faktördür. Ayrıca, SFRP4'ün yüksek ekspresyonu immün mikro çevrenin durumu ile ilişkilidir. Bu nedenle, immünoterapide önemli rol oynayan potansiyel bir biyobelirteç olabilir(433).

Fibronektin 1 (FN1) yüzeyde ve hücre dışı matriste dimerik veya multimerik formda bir glikoprotein olup(436), embriyogenez, yara iyileşmesi, kan pıhtılaşması, konakçı savunması ve metastaz dahil olmak üzere hücre adezyonu ve migrasyon süreçleri ile ilişkilidir(437). FN1 beyin glioblastomu (437) ve deri ve laringeal skuamöz karsinom gibi çeşitli kanser türlerinde kanser hücrelerin oluşumu ve gelişimi ile ilişkili önemli düzenleyici faktördür(438,439). FN1 yüksek ekspresyonu mide kanserinde daha kötü OS ile ilişkilidir (440). miR -200c'nin (mikroRNA-200c bağlama proteini) FN1 ile direkt birleşerek in vitro olarak mide kanseri hücrelerinin göçünü, çoğalmasını ve invazyonunu engelleyebileceği bildirilmiştir.

Böylece, miR-200c ve FN1'in mide kanseri için potansiyel terapötik biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir(441).



6.SONUC

Özetle, bu çalışma 10 farklı mikroarray GEO veri setini entegre etti. Biyoinformatik yöntemler kullanarak mide kanseri ile ilgili 260 yukarı regüle ve 260 aşağı regüle gen dahil olmak üzere 520 DEG tanımlandı. Daha sonra, en önemli yüksek etkileşime sahip 10 yukarı-regüle DEG (INHBA, SULF1, COL1A2, CTHRC1, THBS2, COL1A1, COL11A1, SFRP4, FN1 ve COL10A1) bulduk. Biyoinformatik analiz, bu genlerin mide kanserinin tanı, tedavi ve prognozu için etkili ve güvenilir biyobelirteçler olduğunu gösterdi. Bu genlerin mide kanserinin tanısında ve prognozunda potansiyel biyobelirteç şeklinde veya terapötik hedeflerin geliştirilmesinde kullanılabilir.

Bununla birlikte, çalışmamızın sınırlaması, laboratuvar ve klinik çalışmalara ihtiyaç olmasıdır.



KAYNAKLAR:

1. Joshi SS, Badgwell BD. Current treatment and recent progress in gastric cancer. *CA Cancer J Clin*. 2021 May 16;71(3):264–79.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May 1;71(3):209–49.
3. Becker KF, Keller G, Hoeffler H. The use of molecular biology in diagnosis and prognosis of gastric cancer. *Surg Oncol* [Internet]. 2000 [cited 2022 Jul 31];9(1):5–11.
4. Machlowska J, Maciejewski R, Sitarz R. The pattern of signatures in gastric cancer prognosis [Internet]. Vol. 19, *International Journal of Molecular Sciences*. *Int J Mol Sci*; 2018 [cited 2022 Jul 31].
5. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J cancer*. 2010 Dec 15;127(12):2893–917.
6. Yusefi AR, Lankarani KB, Bastani P, Radinmanesh M, Kavosi Z. Risk factors for gastric cancer: A systematic review [Internet]. Vol. 19, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. *Asian Pac J Cancer Prev*; 2018. p. 591–603.
7. Wroblewski LE, Peek RM, Wilson KT. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: Factors that modulate disease risk. Vol. 23, *Clinical Microbiology Reviews*. *Clin Microbiol Rev*; 2010. p. 713–39.
8. HISAMICHI S, SASAKI R, SUGAWARA N, YANBO T, YAMAGATA S. Stomach cancer in various age groups (Japan) as detected by gastric mass survey. *J Am Geriatr Soc*. 1979;27(10):439–43.
9. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2018 Nov [cited 2022 Jul 31];68(6):394–424.
10. Yaghoobi M, Bijarchi R, Narod SA. Family history and the risk of gastric cancer [Internet]. Vol. 102, *British Journal of Cancer*. *Br J Cancer*; 2010. p. 237–42.
11. Areia M, Carvalho R, Cadime AT, Rocha Gonçalves F, Dinis-Ribeiro M. Screening for gastric cancer and surveillance of premalignant lesions: a systematic review of cost-effectiveness studies. *Helicobacter* [Internet]. 2013 Oct;18(5):325–37.
12. González CA, Agudo A. Carcinogenesis, prevention and early detection of gastric cancer: where we are and where we should go. *Int J cancer* [Internet]. 2012 Feb 15 [cited

- 2022 Aug 22];130(4):745–53.
13. Gullo I, Carneiro F, Oliveira C, Almeida GM. Heterogeneity in Gastric Cancer: From Pure Morphology to Molecular Classifications. *Pathobiology* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2022 Jul 31];85(1–2):50–63.
 14. Mishra A, Verma M. Cancer biomarkers: are we ready for the prime time? *Cancers (Basel)* [Internet]. 2010 Mar [cited 2022 Jul 31];2(1):190–208.
 15. Shimada H, Noie T, Ohashi M, Oba K, Takahashi Y. Clinical significance of serum tumor markers for gastric cancer: a systematic review of literature by the Task Force of the Japanese Gastric Cancer Association. *Gastric Cancer*. 2014 Jan;17(1):26–33.
 16. Jiang P, Liu XS. Big data mining yields novel insights on cancer. *Nat Genet* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2022 Sep 5];47(2):103–4.
 17. Tateishi R, Yoshida H, Matsuyama Y, Mine N, Kondo Y, Omata M. Diagnostic accuracy of tumor markers for hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Hepatol Int* [Internet]. 2008 Mar [cited 2022 Sep 10];2(1):17.
 18. Vizoso M, Ferreira HJ, Lopez-Serra P, Carmona FJ, Martínez-Cardús A, Girotti MR, et al. Epigenetic activation of a cryptic TBC1D16 transcript enhances melanoma progression by targeting EGFR. *Nat Med* [Internet]. 2015 Jul 9;21(7):741.
 19. Alix-Panabières C, Pantel K. Clinical Applications of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA as Liquid Biopsy. *Cancer Discov* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2022 Sep 10];6(5):479–91.
 20. Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. *Przegląd Gastroenterol* [Internet]. 2019 [cited 2022 Jul 31];14(1):26.
 21. Stomach (Gastric) Cancer Survival Rates [Internet]. [cited 2022 Jul 31].
 22. González CA, Megraud F, Buissonniere A, Lujan Barroso L, Agudo A, Duell EJ, et al. *Helicobacter pylori* infection assessed by ELISA and by immunoblot and noncardia gastric cancer risk in a prospective study: the Eurgast-EPIC project. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 2012 [cited 2022 Aug 2];23(5):1320–4.
 23. Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, De Martel C. Global burden of gastric cancer attributable to *Helicobacter pylori*. *Int J cancer* [Internet]. 2015 Jan 15 [cited 2022 Aug 2];136(2):487–90.
 24. Lochhead P, El-Omar EM. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* [Internet]. 2007 Apr [cited 2022 Aug 2];21(2):281–97.
 25. Poorolajal J, Moradi L, Mohammadi Y, Cheraghi Z, Gohari-Ensaf F. Risk factors for stomach cancer: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Health* [Internet].

- 2020 [cited 2022 Aug 2];42.
26. Mager DL. Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? A review. *J Transl Med* [Internet]. 2006 Mar 28;4.
 27. Møller H, Heseltine E, Vainio H. Working group report on schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. Meeting held at IARC, LYON, 7–14 june 1994. *Int J Cancer*. 1995;60(5):587–9.
 28. Mentis AFA, Boziki M, Grigoriadis N, Papavassiliou AG. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer biology: tempering a double-edged sword. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2019 Jul 15 [cited 2022 Aug 3];76(13):2477–86.
 29. Aziz ZW, Saleem SH, Al-Nuaimy HA. *Helicobacter pylori* in Gastric biopsy: A Histochemical and Immunohistochemical Assessment. *Mosul Univ* [Internet]. 2020 Jan 29 [cited 2022 Aug 2];41(2):139–47.
 30. Osman AGA, others. Molecular Detection of *Helicobacter pylori* GLmM Gene among Gastritis and Duodenitis Patients in Albogaa Specialized Hospital-Omdurman [Internet]. 2019 [cited 2022 Aug 2].
 31. Kayali S, Manfredi M, Gaiani F, Bianchi L, Bizzarri B, Leandro G, et al. *Helicobacter pylori*, transmission routes and recurrence of infection: State of the art [Internet]. Vol. 89, *Acta Biomedica*. *Acta Biomed*; 2018 [cited 2022 Aug 2]. p. 72–6.
 32. Mohammadian T, Ganji L. The Diagnostic Tests for Detection of *Helicobacter pylori* Infection. Vol. 38, *Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy*. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*; 2019. p. 1–7.
 33. Bagheri N, Azadegan-Dehkordi F, Rafieian-Kopaei M, Rahimian G, Asadi-Samani M, Shirzad H. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* virulence factors in Iranian patients with gastrointestinal diseases [Internet]. Vol. 100, *Microbial Pathogenesis*. *Microb Pathog*; 2016 [cited 2022 Aug 3]. p. 154–62.
 34. Díaz P, Valderrama MV, Bravo J, Quest AFG. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: Adaptive cellular mechanisms involved in disease progression [Internet]. Vol. 9, *Frontiers in Microbiology*. *Front Microbiol*; 2018 [cited 2022 Aug 3].
 35. Espinoza JL, Matsumoto A, Tanaka H, Matsumura I. Gastric microbiota: An emerging player in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancies. *Cancer Lett* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2022 Aug 3];414:147–52.
 36. Sipponen P, Kekki M, Seppala K, Siurala M. The relationships between chronic gastritis and gastric acid secretion. In: *Alimentary Pharmacology and Therapeutics, Supplement* [Internet]. *Aliment Pharmacol Ther*; 1996 [cited 2022 Aug 3]. p. 103–18.

37. Valle J, Kekki M, Sipponen P, Ihmäki T, Siurala M. Long-term course and consequences of *Helicobacter pylori* gastritis: Results of a 32-year follow-up study. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 1996 [cited 2022 Aug 3];31(6):546–50.
38. Sipponen P, Kekki M, Siurala M. Age-related trends of gastritis and intestinal metaplasia in gastric carcinoma patients and in controls representing the population at large. *Br J Cancer*. 1984;49(4):521–30.
39. Alipour M. Molecular Mechanism of *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Cancer. *J Gastrointest Cancer* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2022 Aug 2];52(1):23.
40. Nakano H, Saito M, Nakajima S, Saito K, Nakayama Y, Kase K, et al. PD-L1 overexpression in EBV-positive gastric cancer is caused by unique genomic or epigenomic mechanisms. *Sci Rep* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2022 Aug 3];11(1).
41. Shinozaki-Ushiku A, Kunita A, Fukayama M. Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (review) [Internet]. Vol. 46, *International Journal of Oncology*. Int J Oncol; 2015 [cited 2022 Aug 3]. p. 1421–34.
42. Bass AJ, Thorsson V, Shmulevich I, Reynolds SM, Miller M, Bernard B, et al. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* [Internet]. 2014 Sep 11 [cited 2022 Aug 3];513(7517):202–9.
43. Xu M, Yao Y, Chen H, Zhang S, Cao SM, Zhang Z, et al. Genome sequencing analysis identifies Epstein-Barr virus subtypes associated with high risk of nasopharyngeal carcinoma. *Nat Genet* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2022 Aug 3];51(7):1131–6.
44. Spear PG, Longnecker R. Herpesvirus Entry: an Update. *J Virol* [Internet]. 2003 Oct [cited 2022 Aug 3];77(19):10179–85.
45. de Souza CRT, de Oliveira KS, Ferraz JJS, Leal MF, Calcagno DQ, Seabra AD, et al. Occurrence of *Helicobacter pylori* and Epstein-Barr virus infection in endoscopic and gastric cancer patients from Northern Brazil. *BMC Gastroenterol*. 2014 Oct 15;14(1).
46. Akiba S, Koriyama C, Herrera-Goepfert R, Eizuru Y. Epstein-Barr virus associated gastric carcinoma: Epidemiological and clinicopathological features [Internet]. Vol. 99, *Cancer Science*. John Wiley & Sons, Ltd; 2008. p. 195–201.
47. Chesnokova LS, Hutt-Fletcher LM. Epstein-Barr virus infection mechanisms [Internet]. Vol. 33, *Chinese Journal of Cancer*. Chin J Cancer; 2014 [cited 2022 Aug 3]. p. 545–8.
48. Fang X, Wei J, He X, An P, Wang H, Jiang L, et al. Landscape of dietary factors associated with risk of gastric cancer: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. Vol. 51, *European Journal of Cancer*. Pergamon; 2015. p. 2820–32.

49. Navarro Silvera SA, Mayne ST, Risch HA, Gammon MD, Vaughan T, Chow WH, et al. Principal Component Analysis of Dietary and Lifestyle Patterns in Relation to Risk of Subtypes of Esophageal and Gastric Cancer. *Ann Epidemiol*. 2011 Jul 1;21(7):543–50.
50. Wie GA, Cho YA, Kang HH, Ryu KA, Yoo MK, Kim YA, et al. Red meat consumption is associated with an increased overall cancer risk: a prospective cohort study in Korea. *Br J Nutr* [Internet]. 2014 Jul 28 [cited 2022 Aug 3];112(2):238–47.
51. Shikata K, Kiyohara Y, Kubo M, Yonemoto K, Ninomiya T, Shirota T, et al. A prospective study of dietary salt intake and gastric cancer incidence in a defined Japanese population: The Hisayama study. *Int J Cancer*. 2006 Jul 1;119(1):196–201.
52. Kim HJ, Chang WK, Kim MK, Lee SS, Choi BY. Dietary factors and gastric cancer in Korea: A case-control study. *Int J Cancer* [Internet]. 2002 Feb 1 [cited 2022 Aug 3];97(4):531–5.
53. Ge S, Feng X, Shen L, Wei Z, Zhu Q, Sun J. Association between Habitual Dietary Salt Intake and Risk of Gastric Cancer: A Systematic Review of Observational Studies. *Gastroenterol Res Pract* [Internet]. 2012 [cited 2022 Aug 4];2012:11.
54. Song JH, Kim YS, Heo NJ, Lim JH, Yang SY, Chung GE, et al. High Salt Intake Is Associated with Atrophic Gastritis with Intestinal Metaplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2017 Jul 1;26(7):1133–8.
55. Thapa S, Fischbach LA, Delongchamp R, Faramawi MF, Orloff M. Association between Dietary Salt Intake and Progression in the Gastric Precancerous Process. *Cancers* 2019, Vol 11, Page 467 [Internet]. 2019 Apr 3 [cited 2022 Aug 3];11(4):467.
56. Kim SR, Kim K, Lee SA, Kwon SO, Lee JK, Keum N, et al. Effect of Red, Processed, and White Meat Consumption on the Risk of Gastric Cancer: An Overall and Dose-Response Meta-Analysis. *Nutrients* [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2022 Aug 3];11(4).
57. Pickled vegetables. IARC Monogr Eval Carcinog risks to humans [Internet]. 1993;56:83–113.
58. Palli D. Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence. *J Gastroenterol* [Internet]. 2000;35 Suppl 1:84–9.
59. Hu Z, Ajani JA, Wei Q. Molecular Epidemiology of Gastric Cancer: Current Status and Future Prospects. *Gastrointest Cancer Res* [Internet]. 2007 Jan;1(1):12.
60. Wild CP. International Agency for Research on Cancer. In: *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition* [Internet]. 2014 [cited 2022 Aug 4]. p. 1067–9.
61. Moy KA, Fan Y, Wang R, Gao YT, Yu MC, Yuan JM. Alcohol and tobacco use in

- relation to gastric cancer: a prospective study of men in Shanghai, China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2010 Sep;19(9):2287.
62. Cai M, Dai S, Chen W, Xia C, Lu L, Dai S, et al. Environmental factors, seven GWAS-identified susceptibility loci, and risk of gastric cancer and its precursors in a Chinese population. *Cancer Med* [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2022 Aug 4];6(3):708.
 63. Campanholo VM de LP, Felipe AV, de Lima JM, Pimenta CAM, Ventura RM, Forones NM. -765 g>c polymorphism of the cox-2 gene and gastric cancer risk in Brazilian population. *Arq Gastroenterol* [Internet]. 2014 [cited 2022 Aug 4];51(2):79–83.
 64. Denova-Gutiérrez E, Hernández-Ramírez RU, López-Carrillo L. Dietary patterns and gastric cancer risk in Mexico. *Nutr Cancer* [Internet]. 2014 Apr 3;66(3):369–76.
 65. Bonequi P, Meneses-González F, Correa P, Rabkin CS, Camargo MC. Risk factors for gastric cancer in Latin-America: a meta-analysis. *Cancer Causes Control* [Internet]. 2013 Feb [cited 2022 Aug 4];24(2):217.
 66. Sun CQ, Chang YB, Cui LL, Chen JJ, Sun N, Zhang WJ, et al. A population-based case-control study on risk factors for gastric cardia cancer in rural areas of Linzhou. *Asian Pac J Cancer Prev* [Internet]. 2013 [cited 2022 Aug 4];14(5):2897–901.
 67. Wu Y, Fan Y, Jiang Y, Wang Y, Liu H, Wei M. Analysis of risk factors associated with precancerous lesion of gastric cancer in patients from eastern China: a comparative study. *J Cancer Res Ther* [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2022 Aug 4];9(2):205–9.
 68. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, Fedirko V, et al. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose–response meta-analysis. *Br J Cancer* [Internet]. 2015 Feb 2 [cited 2022 Aug 4];112(3):580.
 69. Bartsch H, Nair J. Accumulation of lipid peroxidation-derived DNA lesions: potential lead markers for chemoprevention of inflammation-driven malignancies. *Mutat Res* [Internet]. 2005 Dec 11 [cited 2022 Aug 4];591(1–2):34–44.
 70. Hoyo C, Cook MB, Kamangar F, Freedman ND, Whitman DC, Bernstein L, et al. Body mass index in relation to oesophageal and oesophagogastric junction adenocarcinomas: a pooled analysis from the International BEACON Consortium. *Int J Epidemiol* [Internet]. 2012 [cited 2022 Aug 4];41(6):1706.
 71. Chen Y, Liu L, Wang X, Wang J, Yan Z, Cheng J, et al. Body mass index and risk of gastric cancer: a meta-analysis of a population with more than ten million from 24 prospective studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2013 Aug [cited 2022 Aug 4];22(8):1395–408.
 72. Corley DA, Kubo A, Zhao W. Abdominal Obesity and the Risk of Esophageal and

- Gastric Cardia Carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2008 Feb 1 [cited 2022 Aug 4];17(2):352.
73. Alemán JO, Eusebi LH, Ricciardiello L, Patidar K, Sanyal AJ, Holt PR. Mechanisms of Obesity-induced Gastrointestinal Neoplasia. *Gastroenterology* [Internet]. 2014 [cited 2022 Aug 4];146(2):357.
 74. Uthman OA, Jadidi E, Moradi T. Socioeconomic position and incidence of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Epidemiol Community Health* [Internet]. 2013 [cited 2022 Aug 4];67(10):854–60.
 75. Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2014 [cited 2022 Jul 31];23(5):700–13.
 76. Morton LM, Doros GM, Curtis RE, Lynch CF, Stovall M, Hall P, et al. Stomach Cancer Risk After Treatment for Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2013 Sep 9;31(27):3369.
 77. Balfour DC. FACTORS INFLUENCING THE LIFE EXPECTANCY OF PATIENTS OPERATED ON FOR GASTRIC ULCER. *Ann Surg*. 1922 Sep;76(3):405.
 78. Sinning C, Schaefer N, Standop J, Hirner A, Wolff M. Gastric stump carcinoma - epidemiology and current concepts in pathogenesis and treatment. *Eur J Surg Oncol* [Internet]. 2007 Mar [cited 2022 Aug 6];33(2):133–9.
 79. Lu J, Huang CM, Zheng CH, Li P, Xie JW, Wang J Bin, et al. Prognostic Value of Tumor Size in Patients with Remnant Gastric Cancer: Is the Seventh UICC Stage Sufficient for Predicting Prognosis? *PLoS One* [Internet]. 2014 Dec 30 [cited 2022 Aug 6];9(12).
 80. Mezhir JJ, Gonen M, Ammori JB, Strong VE, Brennan MF, Coit DG. Treatment and outcome of patients with gastric remnant cancer after resection for peptic ulcer disease. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2011 Mar [cited 2022 Aug 6];18(3):670–6.
 81. Ahn HS, Kim JW, Yoo MW, Park DJ, Lee HJ, Lee KU, et al. Clinicopathological features and surgical outcomes of patients with remnant gastric cancer after a distal gastrectomy. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2008 Jun;15(6):1632–9.
 82. Ohashi M, Katai H, Fukagawa T, Gotoda T, Sano T, Sasako M. Cancer of the gastric stump following distal gastrectomy for cancer. *Br J Surg*. 2007 Jan;94(1):92–5.
 83. Takeno S, Noguchi T, Kimura Y, Fujiwara S, Kubo N, Kawahara K. Early and late gastric cancer arising in the remnant stomach after distal gastrectomy. *Eur J Surg Oncol* [Internet]. 2006 Dec [cited 2022 Aug 6];32(10):1191–4.
 84. Ohira M, Toyokawa T, Sakurai K, Kubo N, Tanaka H, Muguruma K, et al. Current status in remnant gastric cancer after distal gastrectomy. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2016

- Feb 2 [cited 2022 Aug 6];22(8):2424.
85. Kaminishi M, Shimizu N, Shimoyama S, Yamaguchi H, Tsuji E, Aoki F, et al. Denervation promotes the development of cancer-related lesions in the gastric remnant. *J Clin Gastroenterol* [Internet]. 1997;25 Suppl 1(SUPPL. 1).
 86. Kondo K. Duodenogastric reflux and gastric stump carcinoma. *Gastric Cancer* [Internet]. 2002 [cited 2022 Aug 6];5(1):16–22.
 87. Stomach Cancer — Cancer Stat Facts [Internet]. [cited 2022 Aug 5].
 88. Tarnawski AS, Ahluwalia A, Jones MK. Angiogenesis in gastric mucosa: An important component of gastric erosion and ulcer healing and its impairment in aging. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2022 Aug 5];29(S4):112–23.
 89. Sonnenberg A, Genta RM. Changes in the Gastric Mucosa With Aging. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2022 Aug 5];13(13):2276–81.
 90. Levi E, Sochacki P, Khoury N, Patel BB, Majumdar AP. Cancer stem cells in *Helicobacter pylori* infection and aging: Implications for gastric carcinogenesis. *World J Gastrointest Pathophysiol* [Internet]. 2014 Aug 8 [cited 2022 Aug 5];5(3):366.
 91. Kim GH, Liang PS, Bang SJ, Hwang JH. Screening and surveillance for gastric cancer in the United States: Is it needed? *Gastrointest Endosc*. 2016 Jul 1;84(1):18–28.
 92. Kastrinos F, Samadder NJ, Burt RW. Use of Family History and Genetic Testing to Determine Risk of Colorectal Cancer. *Gastroenterology* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2022 Aug 5];158(2):389–403.
 93. Grogan RH. The Importance of Family History in the Management of Endocrine Disease. *Surg Clin North Am* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2022 Aug 5];99(4):711–20.
 94. Song M, Camargo MC, Weinstein SJ, Best AF, Männistö S, Albanes D, et al. Family history of cancer in first-degree relatives and risk of gastric cancer and its precursors in a Western population. *Gastric Cancer* [Internet]. 2018 Sep 1;21(5):729.
 95. Corso G, Roncalli F, Marrelli D, Carneiro F, Roviello F. History, Pathogenesis, and Management of Familial Gastric Cancer: Original Study of John XXIII's Family. *Biomed Res Int* [Internet]. 2013 [cited 2022 Aug 5];2013.
 96. Lott PC, Carvajal-Carmona LG. Resolving of gastric cancer aetiology: an update in genetic predisposition. *lancet Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2018 Dec 1;3(12):874.
 97. Aird I, Bentall HH, Roberts JAF. Relationship Between Cancer of Stomach and the ABO Blood Groups. *Br Med J* [Internet]. 1953 Apr 4 [cited 2022 Aug 5];1(4814):799.
 98. Vasan SK, Hwang J, Rostgaard K, Nyrén O, Ullum H, Pedersen OBV, et al. ABO blood group and risk of cancer: A register-based cohort study of 1.6 million blood donors.

- Cancer Epidemiol [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2022 Aug 5];44:40–3.
99. Edgren G, Hjalgrim H, Rostgaard K, Norda R, Wikman A, Melbye M, et al. Risk of gastric cancer and peptic ulcers in relation to ABO blood type: a cohort study. *Am J Epidemiol* [Internet]. 2010 Dec 1 [cited 2022 Aug 5];172(11):1280–5.
 100. Wang Z, Liu L, Ji J, Zhang J, Yan M, Zhang J, et al. ABO Blood Group System and Gastric Cancer: A Case-Control Study and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*. 2012;13(10):13308.
 101. Yu H, Xu N, Li ZK, Xia H, Ren HT, Li N, et al. Association of ABO Blood Groups and Risk of Gastric Cancer. *Scand J Surg*. 2020 Dec 1;109(4):309–13.
 102. Sievers ML. Hereditary aspects of gastric secretory function; race and ABO blood groups in relationship to acid and pepsin production. *Am J Med*. 1959;27(2):246–55.
 103. Paré G, Chasman DI, Kellogg M, Zee RYL, Rifai N, Badola S, et al. Novel Association of ABO Histo-Blood Group Antigen with Soluble ICAM-1: Results of a Genome-Wide Association Study of 6,578 Women. *PLoS Genet*. 2008 Jul;4(7):1000118.
 104. NATH K, JOLLY JG, PARASHAR SK. Blood Groups and Susceptibility to Disease. *Br J Prev Soc Med* [Internet]. 1957 Sep [cited 2022 Aug 5];11(3):107.
 105. Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med* [Internet]. 1996 [cited 2022 Aug 6];156(10):1097–100.
 106. Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PWF, Stabler SP, Allen RH, Allen LH, et al. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 1994 [cited 2022 Aug 6];60(1):2–14.
 107. Toh B-H, van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious Anemia. Epstein FH, editor. <https://doi.org/101056/NEJM199711133372007> [Internet]. 1997 Nov 13 [cited 2022 Aug 6];337(20):1441–8.
 108. Hsing AW, Hansson L -E, McLaughlin JK, Nyren O, Blot WJ, Ekbom A, et al. Pernicious anemia and subsequent cancer. A population-based cohort study. *Cancer* [Internet]. 1993 [cited 2022 Aug 6];71(3):745–50.
 109. Rigler LG. Pernicious anemia and tumors of the stomach. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 1947 [cited 2022 Aug 6];7(5):327–32.
 110. Rubenstein JH, Taylor JB. Meta-analysis: The association of oesophageal adenocarcinoma with symptoms of gastro-oesophageal reflux. *Aliment Pharmacol Ther* [Internet]. 2010 Nov;32(10):1222–7.
 111. Derakhshan MH, Malekzadeh R, Watabe H, Yazdanbod A, Fyfe V, Kazemi A, et al. Combination of gastric atrophy, reflux symptoms and histological subtype indicates two

- distinct aetiologies of gastric cardia cancer. *Gut* [Internet]. 2008 Mar;57(3):298–305.
112. Whiteman DC, Sadeghi S, Pandeya N, Smithers BM, Gotley DC, Bain CJ, et al. Combined effects of obesity, acid reflux and smoking on the risk of adenocarcinomas of the oesophagus. *Gut* [Internet]. 2008 Feb [cited 2022 Aug 6];57(2):173–80.
 113. Wu AH, Tseng CC, Bernstein L. Hiatal hernia, reflux symptoms, body size, and risk of esophageal and gastric adenocarcinoma. *Cancer* [Internet]. 2003 Sep 1;98(5):940–8.
 114. Ye W, Chow WH, Lagergren J, Yin L, Nyrén O. Risk of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia in patients with gastroesophageal reflux diseases and after antireflux surgery. *Gastroenterology*. 2001;121(6):1286–93.
 115. Lagergren J, Bergström R, Lindgren A, Nyrén O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* [Internet]. 1999 Mar 18 [cited 2022 Aug 6];340(11):825–31.
 116. Figueroa JD, Terry MB, Gammon MD, Vaughan TL, Risch HA, Zhang FF, et al. Cigarette smoking, body mass index, gastro-esophageal reflux disease, and non-steroidal anti-inflammatory drug use and risk of subtypes of esophageal and gastric cancers by P53 overexpression. *Cancer Causes Control*. 2009 Apr;20(3):361.
 117. Farrow DC, Vaughan TL, Sweeney C, Gammon MD, Chow WH, Risch HA, et al. Gastroesophageal reflux disease, use of H2 receptor antagonists, and risk of esophageal and gastric cancer. *Cancer Causes Control* [Internet]. 2000;11(3):231–8.
 118. Engel LS, Chow WH, Vaughan TL, Gammon MD, Risch HA, Stanford JL, et al. Population attributable risks of esophageal and gastric cancers. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2003 Sep 17 [cited 2022 Aug 6];95(18):1404–13.
 119. Derakhshan MH, McColl KEL. Gender, hiatus hernia and Barrett’s oesophagus. *Gut* [Internet]. 2009 Jul;58(7):1025; author reply 1025–6.
 120. Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T, Konturek JW, Pawlik WW. FROM NERVES AND HORMONES TO BACTERIA IN THE STOMACH; NOBEL PRIZE FOR ACHIEVEMENTS IN GASTROLOGY DURING LAST CENTURY. *J Physiol Pharmacol* [Internet]. 2005 [cited 2022 Aug 7];56:507–30.
 121. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* (London, England). 1984 Jun 16;1(8390):1311–5.
 122. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: The immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer [Internet]. Vol. 54, *Annual Review of Microbiology*. Annu Rev Microbiol; 2000. p. 615–40.
 123. Egan BJ, O’Morain CA. A historical perspective of *Helicobacter* gastroduodenitis and

- its complications. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2007 Apr 1;21(2):335–46.
124. Take S, Mizuno M, Ishiki K, Nagahara Y, Yoshida T, Yokota K, et al. The effect of eradicating *Helicobacter pylori* on the development of gastric cancer in patients with peptic ulcer disease. *Am J Gastroenterol*. 2005 May;100(5):1037–42.
 125. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2001 Sep 13 [cited 2022 Aug 7];345(11):784–9.
 126. Hansson L-E, Nyrén O, Hsing AW, Bergström R, Josefsson S, Chow W-H, et al. The risk of stomach cancer in patients with gastric or duodenal ulcer disease. *N Engl J Med* [Internet]. 1996 Jul 25 [cited 2022 Aug 7];335(4):242–9.
 127. Molloy RM, Sonnenberg A. Relation between gastric cancer and previous peptic ulcer disease. *Gut* [Internet]. 1997 [cited 2022 Aug 7];40(2):247–52.
 128. Zhang ZW RJ. The risk of gastric cancer in patients with gastric and duodenal ulcer. *C Gastroenterol* 2005;2445–9. 2005;24(45):9.
 129. Hansson LE. Risk of stomach cancer in patients with peptic ulcer disease. *World J Surg* [Internet]. 2000 Mar [cited 2022 Aug 7];24(3):315–20.
 130. Meister H, Holubarsch C, Haferkamp O, Schlag P, Herfarth C. Gastritis, intestinal metaplasia and dysplasia versus benign ulcer in stomach and duodenum and gastric carcinoma -- a histotopographical study. *Pathol Res Pract*. 1979;164(3):259–69.
 131. Sipponen P. Update on the pathologic approach to the diagnosis of gastritis, gastric atrophy, and *Helicobacter pylori* and its sequelae. *J Clin Gastroenterol*. 2001;32(3):196–202.
 132. Norfleet RG, Johnson SE. Strange bedfellows: duodenal ulcer and cancer of the stomach. *J Clin Gastroenterol* [Internet]. 1989 Aug;11(4):382–5.
 133. Lewis JH, Woods M. Gastric carcinoma in patients with unoperated duodenal ulcer disease. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 1982 Jun;77(6):368–73.
 134. Dai Y, Wang WH. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in prevention of gastric cancer. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2006 May 21;12(18):2884–9.
 135. Wang WH, Huang JQ, Zheng GF, Lam SK, Karlberg J, Wong BCY. Non-steroidal anti-inflammatory drug use and the risk of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2003 Dec 3;95(23):1784–91.
 136. Yamagata S, Hisamichi S. Precancerous lesions of the stomach. *World J Surg* [Internet]. 1979 Nov;3(6):671–3.
 137. Park YE, Kim SW. Clinicopathologic features of remnant gastric cancer after curative

- distal gastrectomy according to previous reconstruction method: A retrospective cohort study. *World J Surg Oncol* [Internet]. 2019 Nov 30 [cited 2022 Aug 6];17(1).
138. Lee S, Iida M, Yao T, Shindo S, Nose Y, Akazawa K, et al. Risk of gastric cancer in patients with non-surgically treated peptic ulcer. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 1990 [cited 2022 Aug 7];25(12):1223–6.
 139. Stolte M, Sticht T, Eidt S, Ebert D, Finkenzeller G. Frequency, location, and age and sex distribution of various types of gastric polyp. *Endoscopy* [Internet]. 1994;26(8):659–65.
 140. Carmack SW, Genta RM, Schuler CM, Saboorian MH. The Current Spectrum of Gastric Polyps: A 1-Year National Study of over 120,000 Patients. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2009 Jun 28;104(6):1524–32.
 141. Sonnenberg A, Genta RM. Prevalence of benign gastric polyps in a large pathology database. *Dig Liver Dis* [Internet]. 2015 Feb 1 [cited 2022 Aug 12];47(2):164–9.
 142. Kővári B, Kim BH, Lauwers GY. The pathology of gastric and duodenal polyps: current concepts. *Histopathology* [Internet]. 2021 Jan 31;78(1):106–24.
 143. Omori T, Kamiya Y, Tahara T, Shibata T, Nakamura M, Yonemura J, et al. Correlation between magnifying narrow band imaging and histopathology in gastric protruding/or polypoid lesions: A pilot feasibility trial. *BMC Gastroenterol*. 2012 Feb 22 ;12:17.
 144. Raghunath AS, O’Morain C, McLoughlin RC. Review article: the long-term use of proton-pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005 Aug;22 Suppl 1:55–63.
 145. el-Zimaity HM, Jackson FW, Graham DY. Fundic gland polyps developing during omeprazole therapy. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 1997 Oct;92(10):1858–60.
 146. Carmack SW, Genta RM, Graham DY, Lauwers GY. Management of gastric polyps: a pathology-based guide for gastroenterologists. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2009 Jun 7;6(6):331–41.
 147. Archimandritis A, Spiliadis C, Tzivras M, Vamvakousis B, Davaris P, Manika Z, et al. Gastric epithelial polyps: a retrospective endoscopic study of 12974 symptomatic patients. *Ital J Gastroenterol* [Internet]. 1996 Sep;28(7):387–90.
 148. Dirschmid K, Platz-Baudin C, Stolte M. Why is the hyperplastic polyp a marker for the precancerous condition of the gastric mucosa? *Virchows Arch* [Internet]. 2006 Jan [cited 2022 Aug 11];448(1):80–4.
 149. Abraham SC, Singh VK, Yardley JH, Wu T-T. Hyperplastic Polyps of the Stomach. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2001 Apr;25(4):500–7.
 150. Murakami K, Mitomi H, Yamashita K, Tanabe S, Saigenji K, Okayasu I. p53 , But Not c-Ki- ras , Mutation and Down-Regulation of p21 WAF1/CIP1 and Cyclin D1 Are

- Associated With Malignant Transformation in Gastric Hyperplastic Polyps. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2001 Feb 1;115(2):224–34.
151. Nogueira AM, Carneiro F, Seruca R, Cirnes L, Veiga I, Machado JC, et al. Microsatellite instability in hyperplastic and adenomatous polyps of the stomach. *Cancer* [Internet]. 1999 Nov 1;86(9):1649–56.
 152. Lauwers GY, Wahl SJ, Melamed J, Rojas-Corona RR. p53 expression in precancerous gastric lesions: an immunohistochemical study of PAb 1801 monoclonal antibody on adenomatous and hyperplastic gastric polyps. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 1993 Nov;88(11):1916–9.
 153. Yao T, Kajiwarra M, Kuroiwa S, Iwashita A, Oya M, Kabashima A, et al. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps: alteration of phenotypes, proliferative activity, and p53 expression. *Hum Pathol*. 2002;33(10):1016–22.
 154. Hattori T. Morphological range of hyperplastic polyps and carcinomas arising in hyperplastic polyps of the stomach. *J Clin Pathol*. 1985;38(6):622.
 155. Zea-Iriarte WL, Sekine I, Itsuno M, Makiyama K, Naito S, Nakayama T, et al. Carcinoma in gastric hyperplastic polyps. A phenotypic study. *Dig Dis Sci* [Internet]. 1996 [cited 2022 Aug 11];41(2):377–86.
 156. Lauwers: WHO classification of tumours of the digestive... - Google Akademik [Internet]. [cited 2022 Aug 11].
 157. Lauwers GY, Srivastava A. Gastric Preneoplastic Lesions and Epithelial Dysplasia [Internet]. Vol. 36, *Gastroenterology Clinics of North America*. *Gastroenterol Clin North Am*; 2007 [cited 2022 Aug 11]. p. 813–29.
 158. Abraham SC, Montgomery EA, Singh VK, Yardley JH, Wu TT. Gastric adenomas: Intestinal-type and gastric-type adenomas differ in the risk of adenocarcinoma and presence of background mucosal pathology. *Am J Surg Pathol*. 2002 Oct 1;26(10):1276–85.
 159. Nakamura T, Nakano GI. Histopathological classification and malignant change in gastric polyps. *J Clin Pathol* [Internet]. 1985 [cited 2022 Aug 11];38(7):754.
 160. Abraham SC, Park SJ, Lee JH, Mugartegui L, Wu TT. Genetic alterations in gastric adenomas of intestinal and foveolar phenotypes. *Mod Pathol* [Internet]. 2003 Aug 1 [cited 2022 Aug 11];16(8):786–95.
 161. Rugge M, Farinati F, Baffa R, Sonogo F, Di Mario F, Leandro G, et al. Gastric epithelial dysplasia in the natural history of gastric cancer: A multicenter prospective follow-up study. *Gastroenterology*. 1994;107(5):1288–96.

162. LAXÉN F, SIPPONEN P, IHAMÄKI T, HAKKILUOTO A, DORTSCHEVA Z. GASTRIC POLYPS; THEIR MORPHOLOGICAL AND ENDOSCOPICAL CHARACTERISTICS AND RELATION TO GASTRIC CARCINOMA. *Acta Pathol Microbiol Scand Ser A Pathol* [Internet]. 1982;90 A(1–6):221–8.
163. MING SC, GOLDMAN H. GASTRIC POLYPS; A HISTOGENETIC CLASSIFICATION AND ITS RELATION TO CARCINOMA. *Cancer* [Internet]. 1965 Jun;18:721–6.
164. Stolte M. Clinical consequences of the endoscopic diagnosis of gastric polyps. *Endoscopy* [Internet]. 1995 [cited 2022 Aug 16];27(1):32–7.
165. Elster K. Histologic classification of gastric polyps. *Curr Top Pathol* [Internet]. 1976 [cited 2022 Aug 16];63:77–93.
166. Nakamura T, Nakano GI. Histopathological classification and malignant change in gastric polyps. *J Clin Pathol* [Internet]. 1985 [cited 2022 Aug 16];38(7):754.
167. Kamiya T, Morishita T, Asakura H, Miura S, Munakata Y, Tsuchiya M. Long-term follow-up study on gastric adenoma and its relation to gastric protruded carcinoma. *Cancer* [Internet]. 1982 Dec 1;50(11):2496–503.
168. Zhang L, Liu Y, You P, Feng G. Occurrence of gastric cancer in patients with atrophic gastritis during long-term follow-up. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 2018 Jul 3;53(7):843–8.
169. Marques-Silva L, Areia M, Elvas L, Dinis-Ribeiro M. Prevalence of gastric precancerous conditions. *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2014 Apr;26(4):378–87.
170. Polk DB, Peek RM. *Helicobacter pylori: Gastric cancer and beyond* [Internet]. Vol. 10, *Nature Reviews Cancer*. NIH Public Access; 2010 [cited 2022 Aug 9]. p. 403–14.
171. Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: state of the art. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 1996 Jun;5(6):477–81.
172. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res* [Internet]. 1992 Dec 15;52(24):6735–40.
173. Mahmud N, Stashek K, Katona BW, Tondon R, Shroff SG, Roses R, et al. The incidence of neoplasia in patients with autoimmune metaplastic atrophic gastritis: A renewed call for surveillance. *Ann Gastroenterol*. 2019;32(1):67–72.
174. de Vries AC, van Grieken NCT, Looman CWN, Casparie MK, de Vries E, Meijer GA, et al. Gastric Cancer Risk in Patients With Premalignant Gastric Lesions: A Nationwide Cohort Study in the Netherlands. *Gastroenterology*. 2008 Apr 1;134(4):945–52.

175. Sipponen P, Price AB. The Sydney System for classification of gastritis 20 years ago [Internet]. Vol. 26, *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. J Gastroenterol Hepatol; 2011 [cited 2022 Aug 10]. p. 31–4.
176. Meining A, Bayerdörffer E, Müller P, Miehlke S, Lehn N, Hölzel D, et al. Gastric carcinoma risk index in patients infected with *Helicobacter pylori*. *Virchows Arch* [Internet]. 1998 [cited 2022 Aug 10];432(4):311–4.
177. Rugge M, Meggio A, Pennelli G, Pisciolli F, Giacomelli L, De Pretis G, et al. Gastritis staging in clinical practice: The OLGA staging system. *Gut* [Internet]. 2007 May
178. Pimentel-Nunes P, Libânio D, Marcos-Pinto R, Areia M, Leja M, Esposito G, et al. Management of epithelial precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS II): European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European *Helicobacter* and Microbiota Study Group (EHMSG), European Society of Pathology (ESP), and Sociedade Port. Endoscopy [Internet]. 2019 [cited 2022 Aug 10];51(4):365–88.
179. Satoh K, Osawa H, Yoshizawa M, Nakano H, Hirasawa T, Kihira K, et al. Assessment of atrophic gastritis using the OLGA system. *Helicobacter* [Internet]. 2008 Jun [cited 2022 Aug 11];13(3):225–9.
180. Rugge M, De Boni M, Pennelli G, De Bona M, Giacomelli L, Fassan M, et al. Gastritis OLGA-staging and gastric cancer risk: a twelve-year clinico-pathological follow-up study. *Aliment Pharmacol Ther* [Internet]. 2010 [cited 2022 Aug 11];31(10):1104–11.
181. Spechler SJ, Merchant JL, Wang TC, Chandrasoma P, Fox JG, Genta RM, et al. A Summary of the 2016 James W. Freston Conference of the American Gastroenterological Association: Intestinal Metaplasia in the Esophagus and Stomach: Origins, Differences, Similarities and Significance. In: *Gastroenterology* [Internet]. NIH Public Access; 2017 [cited 2022 Aug 10]. p. e6–13.
182. Reis CA, David L, Correa P, Carneiro F, de Bolós C, Garcia E, et al. Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression. *Cancer Res* [Internet]. 1999 Mar 1;59(5):1003–7.
183. Leung WK, Sung JJY. Review article: Intestinal metaplasia and gastric carcinogenesis [Internet]. Vol. 16, *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. John Wiley & Sons, Ltd; 2002 [cited 2022 Aug 7]. p. 1209–16.
184. Valente P, Garrido M, Gullo I, Baldaia H, Marques M, Baldaque-Silva F, et al. Epithelial dysplasia of the stomach with gastric immunophenotype shows features of biological aggressiveness. *Gastric Cancer* [Internet]. 2015 Oct 25;18(4):720–8.
185. Kakizoe T. Chemoprevention of cancer--focusing on clinical trials. *Jpn J Clin Oncol*

- [Internet]. 2003 Sep;33(9):421–42.
186. Glade MJ. Food, nutrition, and the prevention of cancer: A global perspective. In: Nutrition [Internet]. 1999 [cited 2022 Aug 7]. p. 523–6.
 187. Vecchia CL, Negri E, Franceschi S, Franceschi S. Electric refrigerator use and gastric cancer risk. *Br J Cancer* [Internet]. 1990 [cited 2022 Aug 7];62(1):136–7.
 188. Schistosomes, {Liver} {Flukes} and {Helicobacter} pylori - {NCBI} {Bookshelf} [Internet]. [cited 2022 Aug 8].
 189. Fuccio L, Zagari RM, Eusebi LH, Laterza L, Cennamo V, Ceroni L, et al. Meta-analysis: can *Helicobacter pylori* eradication treatment reduce the risk for gastric cancer? *Ann Intern Med* [Internet]. 2009 Jul 21 [cited 2022 Aug 8];151(2):121–8.
 190. Trédaniel J, Boffetta P, Buiatti E, Saracci R, Hirsch A. Tobacco smoking and gastric cancer: Review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 1997;72(4):565–73.
 191. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* Infection. *N Engl J Med* [Internet]. 2002 Oct 10;347(15):1175–86.
 192. Yuan J-M, Ross RK, Gao Y-T, Qu Y-H, Chu X-D, Yu MC. Prediagnostic levels of serum micronutrients in relation to risk of gastric cancer in Shanghai, China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2004 Nov;13(11 Pt 1):1772–80.
 193. Blot WJ, Li J-Y, Taylor PR, Guo W, Dawsey S, Wang G-Q, et al. Nutrition Intervention Trials in Linxian, China: Supplementation With Specific Vitamin/Mineral Combinations, Cancer Incidence, and Disease-Specific Mortality in the General Population. *JNCI J Natl Cancer Inst* [Internet]. 1993 Sep 15;85(18):1483–91.
 194. K. VARIS, P. R. TAYLOR PS. Gastric Cancer and Premalignant Lesions in Atrophic Gastritis: A Controlled Trial on the Effect of Supplementation with Alpha-Tocopherol and Beta-Carotene. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 1998 Jan 8;33(3):294–300.
 195. Jacobs EJ, Connell CJ, McCullough ML, Chao A, Jonas CR, Rodriguez C, et al. Vitamin C, vitamin E, and multivitamin supplement use and stomach cancer mortality in the Cancer Prevention Study II cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Jan;11(1):35–41.
 196. Ma JL, Zhang L, Brown LM, Li JY, Shen L, Pan KF, et al. Fifteen-Year Effects of *Helicobacter pylori*, Garlic, and Vitamin Treatments on Gastric Cancer Incidence and Mortality. *JNCI J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2012 Mar 3 [cited 2022 Aug 8];104(6):488.
 197. Qiao YL, Dawsey SM, Kamangar F, Fan JH, Abnet CC, Sun X Di, et al. Total and Cancer Mortality After Supplementation With Vitamins and Minerals: Follow-up of the Linxian General Population Nutrition Intervention Trial. *JNCI J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2009

- Apr 4 [cited 2022 Aug 8];101(7):507.
198. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer [Internet]. Vol. 12, World Journal of Gastroenterology. Baishideng Publishing Group Inc; 2006 [cited 2022 Aug 7]. p. 354–62.
 199. Sawaoka H, Tsuji S, Tsujii M, Gunawan ES, Sasaki Y, Kawano S, et al. Cyclooxygenase inhibitors suppress angiogenesis and reduce tumor growth in vivo. *Lab Invest* [Internet]. 1999 Dec;79(12):1469–77.
 200. Wong BCY, Zhu GH, Lam SK. Aspirin induced apoptosis in gastric cancer cells. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 1999 Aug;53(7):315–8.
 201. Ristimäki A, Honkanen N, Jänkälä H, Sipponen P, Härkönen M. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res* [Internet]. 1997 Apr 1;57(7):1276–80.
 202. Fu S, Ramanujam KS, Wong A, Fantry GT, Drachenberg CB, James SP, et al. Increased expression and cellular localization of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase 2 in *Helicobacter pylori* gastritis. *Gastroenterology* [Internet]. 1999 Jun;116(6):1319–29.
 203. Shirvani VN, Ouatu-Lascar R, Kaur BS, Omary MB, Triadafilopoulos G. Cyclooxygenase 2 expression in Barrett's esophagus and adenocarcinoma: Ex vivo induction by bile salts and acid exposure. *Gastroenterology*. 2000 Mar;118(3):487–96.
 204. Kelley DJ, Mestre JR, Subbaramaiah K, Sacks PG, Schantz SP, Tanabe T, et al. Benzo[a]pyrene up-regulates cyclooxygenase-2 gene expression in oral epithelial cells. *Carcinogenesis* [Internet]. 1997 Apr 1;18(4):795–9.
 205. Coogan PF, Rosenberg L, Palmer JR, Strom BL, Zauber AG, Stolley PD, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of digestive cancers at sites other than the large bowel. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2000 Jan;9(1):119–23.
 206. Akre K, Ekström AM, Signorello LB, Hansson LE, Nyrén O. Aspirin and risk for gastric cancer: a population-based case-control study in Sweden. *Br J Cancer* [Internet]. 2001 Apr 6;84(7):965–8.
 207. Farrow DC, Vaughan TL, Hansten PD, Stanford JL, Risch HA, Gammon MD, et al. Use of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of esophageal and gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 1998 Feb;7(2):97–102.
 208. Singh S, Varayil JE, Devanna S, Murad MH, Iyer PG. Physical activity is associated with reduced risk of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Prev Res (Phila)* [Internet]. 2014 Jan [cited 2022 Aug 8];7(1):12–22.

209. Kato M, Asaka M. Recent development of gastric cancer prevention. *Jpn J Clin Oncol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2022 Aug 8];42(11):987–94.
210. Correa P, Piazuelo MB, Wilson KT. Pathology of gastric intestinal metaplasia: Clinical implications [Internet]. Vol. 105, *American Journal of Gastroenterology*. NIH Public Access; 2010 [cited 2022 Aug 9]. p. 493–8.
211. Ohata H, Oka M, Yanaoka K, Shimizu Y, Mukoubayashi C, Mugitani K, et al. Gastric cancer screening of a high-risk population in Japan using serum pepsinogen and barium digital radiography. *Cancer Sci* [Internet]. 2005 Oct [cited 2022 Aug 8];96(10):713–20.
212. Miyahara R, Niwa Y, Matsuura T, Maeda O, Ando T, Ohmiya N, et al. Prevalence and prognosis of gastric cancer detected by screening in a large Japanese population: Data from a single institute over 30 years. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2007 [cited 2022 Aug 9];22(9):1435–42.
213. Berlth F, Bollschweiler E, Drebber U, Hoelscher AH, Moenig S. Pathohistological classification systems in gastric cancer: Diagnostic relevance and prognostic value. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014 May 5;20(19):5679–84.
214. LAURÉN P. THE TWO HISTOLOGICAL MAIN TYPES OF GASTRIC CARCINOMA: DIFFUSE AND SO-CALLED INTESTINAL-TYPE CARCINOMA. *Acta Pathol Microbiol Scand* [Internet]. 1965 Sep;64(1):31–49.
215. Marqués-Lespier JM, González-Pons M, Cruz-Correa M. Current Perspectives on Gastric Cancer [Internet]. Vol. 45, *Gastroenterology Clinics of North America*. NIH Public Access; 2016 [cited 2022 Aug 12]. p. 413–28.
216. Zhai Z, Zhu Z-Y, Zhang Y, Yin X, Han B-L, Gao J-L, et al. Prognostic significance of Borrmann type combined with vessel invasion status in advanced gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol* [Internet]. 2020 Sep 15;12(9):992–1004.
217. Sano T, Kodera Y. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. *Gastric Cancer*. 2011 Jun;14(2):101–12.
218. Ming SC. Gastric carcinoma. A pathobiological classification. *Cancer* [Internet]. 1977 Jun;39(6):2475–85.
219. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. *Gastric Cancer* [Internet]. 2011 Jun 15;14(2):101–12.
220. Bass AJ, Thorsson V, Shmulevich I, Reynolds SM, Miller M, Bernard B, et al. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* [Internet]. 2014 Sep 11 [cited 2022 Aug 27];513(7517):202–9.
221. Siebenhüner AR, De Dosso S, Helbling D, Astaras C, Szturz P, Moosmann P, et al.

- Advanced Gastric Cancer: Current Treatment Landscape and a Future Outlook for Sequential and Personalized Guide: Swiss Expert Statement Article. *Oncol Res Treat* [Internet]. 2021;44(9):485–94.
222. Correa P. Gastric cancer: overview. *Gastroenterol Clin North Am* [Internet]. 2013 Jun;42(2):211–7.
 223. Smyth EC, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D, et al. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 2016 [cited 2022 Aug 13];27(suppl 5):v38–49. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27664260/>
 224. Blackstone EH, Rice TW. Staging of cancer of the esophagus and esophagogastric junction. *Esophageal Cancer Prev Diagnosis Ther*. 2019 Jan 1;127–37.
 225. Leake P-A, Cardoso R, Seevaratnam R, Lourenco L, Helyer L, Mahar A, et al. A systematic review of the accuracy and indications for diagnostic laparoscopy prior to curative-intent resection of gastric cancer. *Gastric Cancer* [Internet]. 2012 Sep 11;15(S1):38–47.
 226. Lechner K, Obermeier HL. Cancer-Related Microangiopathic Hemolytic Anemia. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2012 Jul;91(4):195–205.
 227. Okamoto A, Watanabe T, Kamata K, Minaga K, Kudo M. Recent Updates on the Relationship between Cancer and Autoimmune Pancreatitis. *Intern Med* [Internet]. 2019 Jun 1;58(11):1533–9.
 228. Nakajima K, Tamai M, Okaniwa S, Nakamura Y, Kobayashi M, Niwa T, et al. Humoral hypercalcemia associated with gastric carcinoma secreting parathyroid hormone: a case report and review of the literature. *Endocr J* [Internet]. 2013;60(5):557–62.
 229. Piscoya Rivera A, de los Ríos Senmache R, Valdivia Retamozo J, Cedrón Cheng H, Huerta-Mercado Tenorio J, Bussalleu Rivera A. [Malignant acanthosis nigricans: case report and literature review]. *Rev Gastroenterol Peru* [Internet]. 25(1):101–5.
 230. Wagrowska-Danilewicz M, Danilewicz M. Glomerulonephritis associated with malignant diseases of non-renal origin. A report of three cases and a review of the literature. *Pol J Pathol* [Internet]. 1995;46(3):195–8.
 231. Taketa T, Ohigashi S, Suzuki K, Sudo K, Shiozaki H, Suzuki A, et al. Paraneoplastic neurological syndromes associated with gastric cancer: a case report and review of the literature. *Clin J Gastroenterol* [Internet]. 2012 Oct 28;5(5):355–60.
 232. Ricci C, Holton J, Vaira D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2007 Apr;21(2):299–313.

233. Huang HL, Leung CY, Saito E, Katanoda K, Hur C, Kong CY, et al. Effect and cost-effectiveness of national gastric cancer screening in Japan: a microsimulation modeling study. *BMC Med* [Internet]. 2020 Sep 14 [cited 2022 Aug 14];18(1):257.
234. Kim JH, Kim YJ, An J, Lee JJ, Cho JH, Kim KO, et al. Endoscopic features suggesting gastric cancer in biopsy-proven gastric adenoma with high-grade neoplasia. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014 Sep 9 [cited 2022 Aug 14];20(34):12233.
235. Buxbaum JL, Hormozdi D, Dinis-Ribeiro M, Lane C, Dias-Silva D, Sahakian A, et al. Narrow-band imaging versus white light versus mapping biopsy for gastric intestinal metaplasia: a prospective blinded trial. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2022 Aug 14];86(5):857–65.
236. Zhao Z, Yin Z, Wang S, Wang J, Bai B, Qiu Z, et al. Meta-analysis: The diagnostic efficacy of chromoendoscopy for early gastric cancer and premalignant gastric lesions. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2022 Aug 14];31(9):1539–45.
237. Larghi A, Lecca PG, Costamagna G. High-resolution narrow band imaging endoscopy. *Gut* [Internet]. 2008 Jul [cited 2022 Aug 14];57(7):976–86.
238. Song J, Zhang J, Wang J, Guo X, Wang J, Liu Y, et al. Meta-Analysis: Narrow Band Imaging for Diagnosis of Gastric Intestinal Metaplasia. *PLoS One*. 2014 Apr 17;9(4).
239. Ang TL, Pittayanon R, Lau JYW, Rerknimitr R, Ho SH, Singh R, et al. A multicenter randomized comparison between high-definition white light endoscopy and narrow band imaging for detection of gastric lesions. *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2015 [cited 2022 Aug 14];27(12):1473–8.
240. Young E, Philpott H, Singh R. Endoscopic diagnosis and treatment of gastric dysplasia and early cancer: Current evidence and what the future may hold. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2021 Aug 21;27(31):5126–51.
241. Kelly S, Harris KM, Berry E, Hutton J, Roderick P, Cullingworth J, et al. A systematic review of the staging performance of endoscopic ultrasound in gastro-oesophageal carcinoma. *Gut*. 2001;49(4):534–9.
242. Kwee RM, Kwee TC. Imaging in local staging of gastric cancer: A systematic review. *J Clin Oncol*. 2007 May 20;25(15):2107–16.
243. Ang TL, Ng TM, Fock KM, Teo EK. Accuracy of endoscopic ultrasound staging of gastric cancer in routine clinical practice in Singapore. *Chin J Dig Dis*. 2006;7(4):191–6.
244. Puli SR, Batapati Krishna Reddy J, Bechtold ML, Antillon MR, Ibdah JA. How good is endoscopic ultrasound for TNM staging of gastric cancers? A meta-analysis and

- systematic review. *World J Gastroenterol*. 2008;14(25):4011–9.
245. Takemoto T, Yanai H, Tada M, Aibe T, Fujimura H, Murata N, et al. Application of ultrasonic probes prior to endoscopic resection of early gastric cancer. *Endoscopy* [Internet]. 1992 [cited 2022 Aug 15];24(SUPPL. 1):329–33.
 246. Bergman JJGHM, Fockens P. Endoscopic ultrasonography in patients with gastro-esophageal cancer. *Eur J Ultrasound* [Internet]. 1999 Nov;10(2–3):127–38.
 247. Maluf-Filho F, Dotti CM, Halwan B, Queiros AF, Kupski C, Chaves DM, et al. An evidence-based consensus statement on the role and application of endosonography in clinical practice. *Endoscopy* [Internet]. 2009 Nov [cited 2022 Aug 15];41(11):979–87.
 248. Cardoso R, Coburn N, Seevaratnam R, Sutradhar R, Lourenco LG, Mahar A, et al. A systematic review and meta-analysis of the utility of EUS for preoperative staging for gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2012 Jan 12;15(SUPPL.1):19–26.
 249. Tsurumaru D, Miyasaka M, Nishimuta Y, Asayama Y, Nishie A, Kawanami S, et al. Differentiation of early gastric cancer with ulceration and resectable advanced gastric cancer using multiphasic dynamic multidetector CT. *Eur Radiol*. 2016 May 1;26(5):1330–7.
 250. Hye SA, Lee HJ, Yoo MW, Sang GK, Jong PI, Se HK, et al. Diagnostic accuracy of T and N stages with endoscopy, stomach protocol CT, and endoscopic ultrasonography in early gastric cancer. *J Surg Oncol* [Internet]. 2009 Jan 1;99(1):20–7.
 251. Park KJ, Lee MW, Koo JH, Park Y, Kim H, Choi D, et al. Detection of early gastric cancer using hydro-stomach CT: Blinded vs unblinded analysis. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2011 Feb 2 [cited 2022 Aug 15];17(8):1051.
 252. Seevaratnam R, Cardoso R, McGregor C, Lourenco L, Mahar A, Sutradhar R, et al. How useful is preoperative imaging for tumor, node, metastasis (TNM) staging of gastric cancer? A meta-analysis. *Gastric Cancer*. 2012 Aug 12;15(SUPPL.1):3–18.
 253. Kim AY, Kim HJ, Ha HK. Gastric cancer by multidetector row CT: Preoperative staging. *Abdom Imaging* [Internet]. 2005 Aug 29 [cited 2022 Aug 15];30(4):465–72.
 254. Kwee RM, Kwee TC. Imaging in assessing lymph node status in gastric cancer. *Gastric Cancer* 2009 121 [Internet]. 2009 Apr 24 [cited 2022 Aug 15];12(1):6–22.
 255. Kumano S, Murakami T, Kim T, Hori M, Iannaccone R, Nakata S, et al. T Staging of Gastric Cancer: Role of Multi-Detector Row CT1. <https://doi.org/10.1148/radiol2373041380>. 2005 Dec 1;237(3):961–6.
 256. Lim JS, Kim M-J, Choi J-Y, Lee JD. Nutrition View project Assessment of regional GABAA receptor binding using 18F-fluoroflumazenil positron emission tomography in

- spastic type cerebral palsy View project. [cited 2022 Aug 15].
257. Woo SK, Kim S, Kim TU, Lee JW, Kim GH, Choi KU, et al. Investigation of the association between CT detection of early gastric cancer and ultimate histology. *Clin Radiol*. 2008 Nov 1;63(11):1236–44.
 258. Son T, Sun J, Choi S, Cho M, Kwon IG, Kim H Il, et al. Multi-institutional validation of the 8th AJCC TNM staging system for gastric cancer: Analysis of survival data from high-volume Eastern centers and the SEER database. *J Surg Oncol* [Internet]. 2019 [cited 2022 Aug 15];120(4):676–84.
 259. In H, Solsky I, Palis B, Langdon-Embry M, Ajani J, Sano T. Validation of the 8th Edition of the AJCC TNM Staging System for Gastric Cancer using the National Cancer Database. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2017 Nov 1;24(12):3683–91.
 260. Choi J Il, Joo I, Lee JM. State-of-the-art preoperative staging of gastric cancer by MDCT and magnetic resonance imaging. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014 Apr 28;20(16):4546–57.
 261. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines). Gastric Cancer. 2013.
 262. Waddell T, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D. Gastric cancer: ESMO-ESSO-ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 2013;24 Suppl 6(SUPPL.6).
 263. Otuya DO, Verma Y, Farrokhi H, Higgins L, Rosenberg M, Damman C, et al. Non-endoscopic biopsy techniques: a review. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2018 Feb 15;12(2):109–17.
 264. Hatfield AR, Slavin G, Segal AW, Levi AJ. Importance of the site of endoscopic gastric biopsy in ulcerating lesions of the stomach. *Gut* [Internet]. 1975 Nov 1;16(11):884–6.
 265. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJH, Nicolson M, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 Jul 6 [cited 2022 Aug 15];355(1):11–20.
 266. Long B, Yu ZY, Li Q, Du HR, Wang ZJ, Zhan H, et al. A systematic review and network meta-analysis protocol of neoadjuvant treatments for patients with gastric cancer. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2022 Aug 15];97(15).
 267. Kong SH, Lee HJ, Ahn HS, Kim JW, Kim WH, Lee KU, et al. Stage migration effect on survival in gastric cancer surgery with extended lymphadenectomy: the reappraisal of positive lymph node ratio as a proper N-staging. *Ann Surg* [Internet]. 2012 Jan [cited

- 2022 Aug 16];255(1):50–8.
268. Feinstein AR, Sosin DM, Wells CK. The Will Rogers phenomenon. Stage migration and new diagnostic techniques as a source of misleading statistics for survival in cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 1985 Jun 20 [cited 2022 Aug 16];312(25):1604–8.
 269. Niclauss N, Gütgemann I, Dohmen J, Kalff JC, Lingohr P. Novel Biomarkers of Gastric Adenocarcinoma: Current Research and Future Perspectives. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2022 Jul 31];13(22).
 270. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2017 Mar [cited 2022 Aug 17];67(2):93–9.
 271. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2010 Jun [cited 2022 Aug 17];17(6):1471–4.
 272. In H, Solsky I, Palis B, Langdon-Embry M, Ajani J, Sano T. Validation of the 8th Edition of the AJCC TNM Staging System for Gastric Cancer using the National Cancer Database. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2017 Nov 11;24(12):3683–91.
 273. Liu MM, Wen L, Liu YJ, Cai Q, Li LT, Cai YM. Application of data mining methods to improve screening for the risk of early gastric cancer. *BMC Med Inform Decis Mak* [Internet]. 2018 Dec 7;18(Suppl 5).
 274. Ho SWT, Tan P. Dissection of gastric cancer heterogeneity for precision oncology. *Cancer Sci* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2022 Aug 17];110(11):3405–14.
 275. Piłkuła A, Kwietniewska M, Rawicz-Pruszyński K, Ciseł B, Skórzewska M, Gęca K, et al. The importance of Epstein-Barr virus infection in the systemic treatment of patients with gastric cancer. *Semin Oncol* [Internet]. 2020 Apr 1;47(2–3):127–37.
 276. Hohenberger P, Gretschel S. Gastric cancer. *Lancet* [Internet]. 2003 Jul 26 [cited 2022 Aug 17];362(9380):305–15.
 277. Everett SM, Axon ATR. Early gastric cancer in Europe. *Gut* [Internet]. 1997 [cited 2022 Aug 17];41(2):142–50.
 278. Terry MB, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. *Semin Radiat Oncol* [Internet]. 2002;12(2):111–27.
 279. Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. *N Engl J Med* [Internet]. 1995 Jul 6 [cited 2022 Aug 17];333(1):32–41.
 280. Shimizu S, Tada M, Kawai K. Early gastric cancer: its surveillance and natural course.

- Endoscopy [Internet]. 1995 [cited 2022 Aug 17];27(1):27–31.
281. Evans DMD, Craven JL, Murphy F, Cleary BK. Comparison of “early gastric cancer” in Britain and Japan. *Gut* [Internet]. 1978;19(1):1–19.
 282. Kajitani T. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. *Japanese J Surg* 1981 112 [Internet]. 1981 Mar [cited 2022 Aug 17];11(2):127–39.
 283. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. *Japanese J Surg* 1981 112 [Internet]. 1981 Mar;11(2):140–5.
 284. Emoto S, Ishigami H, Yamashita H, Yamaguchi H, Kaisaki S, Kitayama J. Clinical significance of CA125 and CA72-4 in gastric cancer with peritoneal dissemination. *Gastric Cancer* [Internet]. 2012 Apr [cited 2022 Aug 22];15(2):154–61.
 285. Li Y, Yang Y, Lu M, Shen L. Predictive value of serum CEA, CA19-9 and CA72.4 in early diagnosis of recurrence after radical resection of gastric cancer. *Hepatogastroenterology* [Internet]. 2011 Nov;58(112):2166–70.
 286. Takahashi Y, Takeuchi T, Sakamoto J, Touge T, Mai M, Ohkura H, et al. The usefulness of CEA and/or CA19-9 in monitoring for recurrence in gastric cancer patients: a prospective clinical study. *Gastric Cancer* 2003 63 [Internet]. 2003;6(3):142–5.
 287. Kim DH, Oh SJ, Oh CA, Choi MG, Noh JH, Sohn TS, et al. The relationships between perioperative CEA, CA 19-9, and CA 72-4 and recurrence in gastric cancer patients after curative radical gastrectomy. *J Surg Oncol* [Internet]. 2011 Nov 1;104(6):585–91.
 288. Ishigami S, Natsugoe S, Nakashima H, Tokuda K, Nakajo A, Okumura H, et al. Biological aggressiveness of alpha-fetoprotein (AFP)-positive gastric cancer. *Hepatogastroenterology* [Internet]. 53(69):338–41.
 289. Nakata B, Hirakawa-YS Chung K, Kato Y, Yamashita Y, Maeda K, Onoda N, et al. Serum CA 125 Level as a Predictor of Peritoneal Dissemination in Patients with Gastric Carcinoma. 1998;
 290. Li XD, Wu CP, Ji M, Wu J, Lu B, Shi HB, et al. Characteristic analysis of α -fetoprotein-producing gastric carcinoma in China. *World J Surg Oncol* [Internet]. 2013 Oct 1;11:246.
 291. He L, Ye F, Qu L, Wang D, Cui M, Wei C, et al. Protein profiling of alpha-fetoprotein producing gastric adenocarcinoma. *Oncotarget* [Internet]. 2016 May 5;7(19):28448.
 292. Wang D, Li C, Xu Y, Xing Y, Qu L, Guo Y, et al. Clinicopathological characteristics and prognosis of alpha-fetoprotein positive gastric cancer in Chinese patients. *Int J Clin Exp Pathol* [Internet]. 2015 [cited 2022 Aug 23];8(6):6345.
 293. Hatta W, Gotoda T, Koike T, Masamune A. History and future perspectives in Japanese guidelines for endoscopic resection of early gastric cancer. *Dig Endosc* [Internet]. 2020

- Jan 1 [cited 2022 Aug 23];32(2):180–90.
294. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4). Gastric Cancer [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2022 Aug 23];20(1):1–19.
 295. Pimentel-Nunes P, Dinis-Ribeiro M, Ponchon T, Repici A, Vieth M, De Ceglie A, et al. Endoscopic submucosal dissection: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. Endoscopy [Internet]. 2015 Sep 1;47(9):829–54.
 296. A F, M A, M DM, N M. Endoscopic submucosal dissection vs endoscopic mucosal resection for early gastric cancer: A meta-analysis. World J Gastrointest Endosc [Internet]. 2014 [cited 2022 Aug 23];6(11):555.
 297. Park YM, Cho E, Kang HY, Kim JM. The effectiveness and safety of endoscopic submucosal dissection compared with endoscopic mucosal resection for early gastric cancer: a systematic review and metaanalysis. Surg Endosc [Internet]. 2011 [cited 2022 Aug 23];25(8):2666–77.
 298. Smyth E, Schöder H, Strong VE, Capanu M, Kelsen DP, Coit DG, et al. A prospective evaluation of the utility of 2-deoxy-2-[(18) F]fluoro-D-glucose positron emission tomography and computed tomography in staging locally advanced gastric cancer. Cancer [Internet]. 2012 Nov 15 [cited 2022 Aug 23];118(22):5481–8.
 299. Davis JL, Ripley RT. Postgastrectomy Syndromes and Nutritional Considerations Following Gastric Surgery. Surg Clin North Am [Internet]. 2017 Apr 1;97(2):277–93.
 300. Hiki N, Nunobe S, Kubota T, Jiang X. Function-preserving gastrectomy for early gastric cancer. Ann Surg Oncol [Internet]. 2013 Aug [cited 2022 Aug 23];20(8):2683–92.
 301. Nunobe S, Sasako M, Saka M, Fukagawa T, Katai H, Sano T. Symptom evaluation of long-term postoperative outcomes after pylorus-preserving gastrectomy for early gastric cancer. Gastric Cancer [Internet]. 2007 Sep [cited 2022 Aug 23];10(3):167–72.
 302. Park DJ, Lee HJ, Jung HC, Kim WH, Lee KU, Yang HK. Clinical outcome of pylorus-preserving gastrectomy in gastric cancer in comparison with conventional distal gastrectomy with Billroth I anastomosis. World J Surg. 2008 Jun;32(6):1029–36.
 303. Takiguchi N, Takahashi M, Ikeda M, Inagawa S, Ueda S, Nobuoka T, et al. Long-term quality-of-life comparison of total gastrectomy and proximal gastrectomy by postgastrectomy syndrome assessment scale (PGSAS-45): a nationwide multi-institutional study. Gastric Cancer [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2022 Aug 23];18(2):407–16.
 304. Ji J, Shen L, Li Z, Zhang X, Liang H, Xue Y, et al. Perioperative chemotherapy of oxaliplatin combined with S-1 (SOX) versus postoperative chemotherapy of SOX or

- oxaliplatin with capecitabine (XELOX) in locally advanced gastric adenocarcinoma with D2 gastrectomy: A randomized phase III trial (RESOLVE trial). *Ann Oncol*. 2019 Oct 1;30:v877.
305. Kang Y-K, Yook JH, Park Y-K, Kim Y-W, Kim J, Ryu M-H, et al. Phase III randomized study of neoadjuvant chemotherapy (CT) with docetaxel(D), oxaliplatin(O) and S-1(S) (DOS) followed by surgery and adjuvant S-1, vs surgery and adjuvant S-1, for resectable advanced gastric cancer (GC) (PRODIGY). *Ann Oncol*. 2019 Oct 1;30:v876–7.
 306. Ychou M, Boige V, Pignon JP, Conroy T, Bouché O, Lebreton G, et al. Perioperative chemotherapy compared with surgery alone for resectable gastroesophageal adenocarcinoma: an FNCLCC and FFCD multicenter phase III trial. *J Clin Oncol* [Internet]. 2011 May 1 [cited 2022 Aug 23];29(13):1715–21.
 307. Schuhmacher C, Gretschel S, Lordick F, Reichardt P, Hohenberger W, Eisenberger CF, et al. Neoadjuvant chemotherapy compared with surgery alone for locally advanced cancer of the stomach and cardia: European Organisation for Research and Treatment of Cancer randomized trial 40954. *J Clin Oncol* [Internet]. 2010 Dec 10;28(35):5210–8.
 308. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJH, Nicolson M, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 Jul 6 [cited 2022 Aug 23];355(1):11–20.
 309. Cats A, Jansen EPM, van Grieken NCT, Sikorska K, Lind P, Nordsmark M, et al. Chemotherapy versus chemoradiotherapy after surgery and preoperative chemotherapy for resectable gastric cancer (CRITICS): an international, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2022 Aug 23];19(5):616–28.
 310. Lee J, Lim DH, Kim S, Park SH, Park JO, Park YS, et al. Phase III trial comparing capecitabine plus cisplatin versus capecitabine plus cisplatin with concurrent capecitabine radiotherapy in completely resected gastric cancer with D2 lymph node dissection: the ARTIST trial. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012 Jan 20 [cited 2022 Aug 23];30(3):268–73.
 311. Leong T, Smithers BM, Michael M, Gebiski V, Boussioutas A, Miller D, et al. TOPGEAR: a randomised phase III trial of perioperative ECF chemotherapy versus preoperative chemoradiation plus perioperative ECF chemotherapy for resectable gastric cancer (an international, intergroup trial of the AGITG/TROG/EORTC/NCIC CTG). *BMC Cancer* [Internet]. 2015 Jul 21 [cited 2022 Aug 24];15(1).
 312. Slagter AE, Jansen EPM, van Laarhoven HWM, van Sandick JW, van Grieken NCT,

- Sikorska K, et al. CRITICS-II: a multicentre randomised phase II trial of neo-adjuvant chemotherapy followed by surgery versus neo-adjuvant chemotherapy and subsequent chemoradiotherapy followed by surgery versus neo-adjuvant chemoradiotherapy followed by surgery in resectable gastric cancer. *BMC Cancer*. 2018;18(1).
313. Bang YJ, Kim YW, Yang HK, Chung HC, Park YK, Lee KH, et al. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trial. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2012 [cited 2022 Aug 23];379(9813):315–21.
 314. Stiekema J, Trip AK, Jansen EPM, Aarts MJ, Boot H, Cats A, et al. Does adjuvant chemoradiotherapy improve the prognosis of gastric cancer after an r1 resection? Results from a dutch cohort study. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2015;22(2):581–8.
 315. Yoshida K, Kodera Y, Kochi M, Ichikawa W, Kakeji Y, Sano T, et al. Addition of Docetaxel to Oral Fluoropyrimidine Improves Efficacy in Patients With Stage III Gastric Cancer: Interim Analysis of JACCRO GC-07, a Randomized Controlled Trial. *J Clin Oncol* [Internet]. 2019 May 20 [cited 2022 Aug 23];37(15):1296–304.
 316. Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, van Grieken NC, Lordick F. Gastric cancer. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2020;396(10251):635–48.
 317. Bichev: D. Survival advantage for irinotecan versus... - Google Akademik [Internet]. [cited 2022 Aug 25].
 318. Ford HER, Marshall A, Bridgewater JA, Janowitz T, Coxon FY, Wadsley J, et al. Docetaxel versus active symptom control for refractory oesophagogastric adenocarcinoma (COUGAR-02): an open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2014 Jan [cited 2022 Aug 25];15(1):78–86.
 319. Kang JH, Lee S Il, Lim DH, Park KW, Oh SY, Kwon HC, et al. Salvage chemotherapy for pretreated gastric cancer: a randomized phase III trial comparing chemotherapy plus best supportive care with best supportive care alone. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012 May 1 [cited 2022 Aug 25];30(13):1513–8.
 320. Glimelius B, Ekström K, Hoffman K, Graf W, Sjöden PO, Haglund U, et al. Randomized comparison between chemotherapy plus best supportive care with best supportive care in advanced gastric cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 1997 [cited 2022 Aug 25];8(2):163–8.
 321. Al-Batran SE, Pauligk C, Homann N, Hartmann JT, Moehler M, Probst S, et al. The feasibility of triple-drug chemotherapy combination in older adult patients with oesophagogastric cancer: a randomised trial of the Arbeitsgemeinschaft Internistische

- Onkologie (FLOT65+). *Eur J Cancer*. 2013 Mar;49(4):835–42.
322. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2010 Aug 28 [cited 2022 Aug 25];376(9742):687–97.
 323. Janjigian YY, Shitara K, Moehler M, Garrido M, Salman P, Shen L, et al. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2021 Jul 3 [cited 2022 Aug 25];398(10294):27–40.
 324. Kang YK, Kang WK, Shin DB, Chen J, Xiong J, Wang J, et al. Capecitabine/cisplatin versus 5-fluorouracil/cisplatin as first-line therapy in patients with advanced gastric cancer: a randomised phase III noninferiority trial. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 2009 [cited 2022 Aug 25];20(4):666–73.
 325. Ford R, Schwartz L, Dancey J, Dodd LE, Eisenhauer EA, Gwyther S, et al. Lessons learned from independent central review. *Eur J Cancer* [Internet]. 2009 Jan [cited 2022 Aug 25];45(2):268–74.
 326. Lorenzen S, Schuster T, Porschen R, Al-Batran SE, Hofheinz R, Thuss-Patience P, et al. Cetuximab plus cisplatin-5-fluorouracil versus cisplatin-5-fluorouracil alone in first-line metastatic squamous cell carcinoma of the esophagus: a randomized phase II study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 2009 [cited 2022 Aug 25];20(10):1667–73.
 327. Kim GM, Jeung HC, Rha SY, Kim HS, Jung I, Nam BH, et al. A randomized phase II trial of S-1-oxaliplatin versus capecitabine-oxaliplatin in advanced gastric cancer. *Eur J Cancer* [Internet]. 2012 Mar [cited 2022 Aug 25];48(4):518–26.
 328. Enzinger PC, Burtneß BA, Niedzwiecki D, Ye X, Douglas K, Ilson DH, et al. CALGB 80403 (Alliance)/E1206: A Randomized Phase II Study of Three Chemotherapy Regimens Plus Cetuximab in Metastatic Esophageal and Gastroesophageal Junction Cancers. *J Clin Oncol* [Internet]. 2016 Aug 10;34(23):2736–42.
 329. Probst: S. Phase III trial in metastatic gastroesophageal... - Google Akademik [Internet]. [cited 2022 Aug 25].
 330. Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ, Dumitru F, Passalacqua R, Goswami C, et al. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-

- oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* (London, England). 2014;383(9911):31–9.
331. Wilke H, Muro K, Van Cutsem E, Oh SC, Bodoky G, Shimada Y, et al. Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW): a double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014 Oct 1;15(11):1224–35.
 332. Shitara K, Bang Y-J, Iwasa S, Sugimoto N, Ryu M-H, Sakai D, et al. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Positive Gastric Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Jun 18 [cited 2022 Aug 25];382(25):2419–30.
 333. Albertsson M, Johansson B, Friesland S, Kadar L, Letocha H, Frykholm G, et al. Phase II studies on docetaxel alone every third week, or weekly in combination with gemcitabine in patients with primary locally advanced, metastatic, or recurrent esophageal cancer. *Med Oncol*. 2007 Dec 9;24(4):407–12.
 334. Hironaka S, Ueda S, Yasui H, Nishina T, Tsuda M, Tsumura T, et al. Randomized, open-label, phase III study comparing irinotecan with paclitaxel in patients with advanced gastric cancer without severe peritoneal metastasis after failure of prior combination chemotherapy using fluoropyrimidine plus platinum: WJOG 4007 trial. *J Clin Oncol* [Internet]. 2013 Dec 10 [cited 2022 Aug 25];31(35):4438–44.
 335. Ilson DH, Wadleigh RG, Leichman LP, Kelsen DP. Paclitaxel given by a weekly 1-h infusion in advanced esophageal cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 2007 May [cited 2022 Aug 25];18(5):898–902.
 336. Ajani JA, Ilson DH, Daugherty K, Pazdur R, Lynch PM, Kelsen DP. Activity of taxol in patients with squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 1994 Jul 20 [cited 2022 Aug 25];86(14):1086–91.
 337. Fuchs CS, Moore MR, Harker G, Villa L, Rinaldi D, Hecht JR. Phase III comparison of two irinotecan dosing regimens in second-line therapy of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2003 Mar 1 [cited 2022 Aug 25];21(5):807–14.
 338. Sym SJ, Hong J, Park J, Cho EK, Lee JH, Park YH, et al. A randomized phase II study of biweekly irinotecan monotherapy or a combination of irinotecan plus 5-fluorouracil/leucovorin (mFOLFIRI) in patients with metastatic gastric adenocarcinoma refractory to or progressive after first-line chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* [Internet]. 2013 Feb [cited 2022 Aug 25];71(2):481–8.
 339. Moehler M, Haas U, Siebler J, Schimanski C, Hertkorn C, Hoehler T, et al. Weekly

- treatment with irinotecan, folinic acid and infusional 5-fluorouracil (ILF) in patients with advanced gastric cancer. *Anticancer Drugs* [Internet]. 2003 Sep [cited 2022 Aug 25];14(8):645–50.
340. Maugeri-Saccà M, Pizzuti L, Sergi D, Barba M, Belli F, Fattoruso SI, et al. FOLFIRI as a second-line therapy in patients with docetaxel-pretreated gastric cancer: a historical cohort. *J Exp Clin Cancer Res* [Internet]. 2013 [cited 2022 Aug 25];32(1).
 341. Sym SJ, Ryu MH, Lee JL, Chang HM, Kim TW, Lee SS, et al. Salvage chemotherapy with biweekly irinotecan, plus 5-fluorouracil and leucovorin in patients with advanced gastric cancer previously treated with fluoropyrimidine, platinum, and taxane. *Am J Clin Oncol* [Internet]. 2008 Apr [cited 2022 Aug 25];31(2):151–6.
 342. Assersohn L, Brown G, Cunningham D, Ward C, Oates J, Waters JS, et al. Phase II study of irinotecan and 5-fluorouracil/leucovorin in patients with primary refractory or relapsed advanced oesophageal and gastric carcinoma. *Ann Oncol*. 2004 Jan 1;15(1):64–9.
 343. Ajani JA, D’Amico TA, Bentrem DJ, Chao J, Cooke D, Corvera C, et al. Gastric Cancer, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Cancer Netw* [Internet]. 2022 Feb 1 [cited 2022 Aug 25];20(2):167–92.
 344. Durães C, Almeida GM, Seruca R, Oliveira C, Carneiro F. Biomarkers for gastric cancer: prognostic, predictive or targets of therapy? *Virchows Arch* [Internet]. 2014 [cited 2022 Aug 27];464(3):367–78.
 345. Lin LL, Huang HC, Juan HF. Discovery of biomarkers for gastric cancer: a proteomics approach. *J Proteomics* [Internet]. 2012 Jun 18 [cited 2022 Aug 27];75(11):3081–97.
 346. Italiano A. Prognostic or predictive? It’s time to get back to definitions! *J Clin Oncol* [Internet]. 2011 Dec 10 [cited 2022 Aug 27];29(35):4718.
 347. Meric-Bernstam F, Johnson AM, Ileana Dumbrava EE, Raghav K, Balaji K, Bhatt M, et al. Advances in HER2-Targeted Therapy: Novel Agents and Opportunities Beyond Breast and Gastric Cancer. *Clin Cancer Res*. 2019 Apr 4;25(7):2033.
 348. Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 2008 [cited 2022 Aug 26];19(9):1523–9.
 349. Lordick F, Al-Batran SE, Dietel M, Gaiser T, Hofheinz RD, Kirchner T, et al. HER2 testing in gastric cancer: results of a German expert meeting. *J Cancer Res Clin Oncol* [Internet]. 2017 May 1 [cited 2022 Aug 26];143(5):835.
 350. Wadhwa R, Song S, Lee J-S, Yao Y, Wei Q, Ajani JA. Gastric cancer-molecular and

- clinical dimensions. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2013 Nov;10(11):643–55.
351. Shitara K, Bang Y-J, Iwasa S, Sugimoto N, Ryu M-H, Sakai D, et al. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Positive Gastric Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Jun 18 [cited 2022 Aug 27];382(25):2419–30.
352. Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, Park SR, et al. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol* [Internet]. 2011 Oct 20 [cited 2022 Aug 26];29(30):3968–76.
353. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the Pd-1 Immunoinhibitory Receptor by a Novel B7 Family Member Leads to Negative Regulation of Lymphocyte Activation. *J Exp Med* [Internet]. 2000 Oct 10 [cited 2022 Aug 26];192(7):1027.
354. Liu X, Choi MG, Kim K, Kim KM, Kim ST, Park SH, et al. High PD-L1 expression in gastric cancer (GC) patients and correlation with molecular features. *Pathol Res Pract* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2022 Aug 26];216(4).
355. Fuchs CS, Doi T, Jang RW, Muro K, Satoh T, Machado M, et al. Safety and Efficacy of Pembrolizumab Monotherapy in Patients With Previously Treated Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: Phase 2 Clinical KEYNOTE-059 Trial. *JAMA Oncol* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2022 Aug 26];4(5).
356. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, Powderly JD, Picus J, Sharfman WH, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol* [Internet]. 2010 Jul 1 [cited 2022 Aug 26];28(19):3167–75.
357. Kang YK, Boku N, Satoh T, Ryu MH, Chao Y, Kato K, et al. Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2017 Dec 2 [cited 2022 Aug 26];390(10111):2461–71.
358. Satoh T, Doi T, Ohtsu A, Tsuji A, Omuro Y, Mukaiyama A, et al. Lapatinib plus paclitaxel versus paclitaxel alone in the second-line treatment of HER2-amplified advanced gastric cancer in Asian populations: TyTAN--a randomized, phase III study. *J Clin Oncol* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2022 Aug 27];32(19):2039–49.
359. Pavlakakis N, Sjoquist KM, Martin AJ, Tsobanis E, Yip S, Kang YK, et al. Regorafenib for the Treatment of Advanced Gastric Cancer (INTEGRATE): A Multinational

- Placebo-Controlled Phase II Trial. *J Clin Oncol*. 2016 Aug 10;34(23):2728–35.
360. Yi JH, Lee J, Lee J, Park SH, Park JO, Yim DS, et al. Randomised phase II trial of docetaxel and sunitinib in patients with metastatic gastric cancer who were previously treated with fluoropyrimidine and platinum. *Br J Cancer*. 2012 Apr 24;106(9):1469–74.
 361. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet*. 2000 May;25(1):25–9.
 362. Kanehisa M, Sato Y, Kawashima M, Furumichi M, Tanabe M. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(D1):D457–62.
 363. Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2016 Mar [cited 2022 Sep 5];66(2):115–32.
 364. Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, Haustermans K, Prenen H. Gastric cancer. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2016 Nov 26 [cited 2022 Sep 5];388(10060):2654–64.
 365. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin*. 2016 Jan;66(1):7–30.
 366. Tan J, Jin X, Wang K. Integrated Bioinformatics Analysis of Potential Biomarkers for Prostate Cancer. *Pathol Oncol Res* [Internet]. 2019 Apr 15;25(2):455–60.
 367. Oshima T, Yoshihara K, Aoyama T, Hasegawa S, Sato T, Yamamoto N, et al. Relation of INHBA gene expression to outcomes in gastric cancer after curative surgery. *Anticancer Res* [Internet]. 2014 May;34(5):2303–9.
 368. Lorenzen JR, Channing CP, Schwartz NB. Partial Characterization of FSH Suppressing Activity (Folliculostatin) in Porcine Follicular Fluid Using the Metestrous Rat as an in vivo Bioassay Model. *academic.oup.com* [Internet]. [cited 2022 Sep 6].
 369. Vale W, Rivier C, Hsueh A, Campen C, Meunier H, Bicsak T, et al. Chemical and biological characterization of the inhibin family of protein hormones. *Recent Prog Horm Res*. 1988;44:1–34.
 370. Jaffe G, Harrison C, science GL-... & visual, 1994 undefined. Activin expression by cultured human retinal pigment epithelial cells. *researchgate.net* [Internet]. 1994.
 371. Gurdon JB, Harger P, Mitchell A, Lemaire P. Activin signalling and response to a morphogen gradient. *Nature* [Internet]. 1994 [cited 2022 Sep 6];371(6497):487–92.
 372. Smith JC, Price BMJ, Van Nimmen K, Huylebroeck D. Identification of a potent *Xenopus* mesoderm-inducing factor as a homologue of activin A. *Nature* [Internet]. 1990 [cited 2022 Sep 6];345(6277):729–31.
 373. Mather JP, Woodruff TK, Krummen LA. Paracrine Regulation of Reproductive Function

- by Inhibin and Activin. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1992;201(1):1–15.
374. Mather: Activins, inhibins, and follistatins: further... - Google Akademik [Internet]. [cited 2022 Sep 6].
 375. Shiozaki M, Kosaka M, Eto Y. Activin A: a commitment factor in erythroid differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998 Jan 26;242(3):631–5.
 376. Murata M, Onomichi K, Eto Y, Shibai H, Muramatsu M. Expression of erythroid differentiation factor (EDF) in Chinese hamster ovary cells. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 1988 Feb 29 [cited 2022 Sep 6];151(1):230–5.
 377. Eto Y, Tsuji T, Takezawa M, Takano S, Yokogawa Y, Shibai H. Purification and characterization of erythroid differentiation factor (EDF) isolated from human leukemia cell line THP-1. *Biochem Biophys Res Commun*. 1987 Feb 13;142(3):1095–103.
 378. Boitani C, Stefanini M, Fragale A, Morena AR. Activin stimulates Sertoli cell proliferation in a defined period of rat testis development. *Endocrinology*. 1995;136(12):5438–44.
 379. Matzuk MM, Finegold MJ, Su JGJ, Hsueh AJW, Bradley A. Alpha-inhibin is a tumour-suppressor gene with gonadal specificity in mice. *Nature*. 1992;360(6402):313–9.
 380. Green JBA, New H V., Smith JC. Responses of embryonic *Xenopus* cells to activin and FGF are separated by multiple dose thresholds and correspond to distinct axes of the mesoderm. *Cell*. 1992 Nov 27;71(5):731–9.
 381. Chen Z-L, Qin L, Peng X-B, Hu Y, Liu B. INHBA gene silencing inhibits gastric cancer cell migration and invasion by impeding activation of the TGF- β signaling pathway. *J Cell Physiol* [Internet]. 2019;234(10):18065–74.
 382. Miyamoto Y, Schirripa M, Suenaga M, Cao S, Zhang W, Okazaki S, et al. A polymorphism in the cachexia-associated gene INHBA predicts efficacy of regorafenib in patients with refractory metastatic colorectal cancer. *PLoS One* [Internet]. 2020;15(9):e0239439.
 383. Miao Y, Wang J, Ma X, Yang Y, Mi D. Identification prognosis-associated immune genes in colon adenocarcinoma. *Biosci Rep* [Internet]. 2020;40(11).
 384. Lin H, Hong Y-G, Zhou J-D, Gao X-H, Yuan P-H, Xin C, et al. LncRNA INHBA-AS1 promotes colorectal cancer cell proliferation by sponging miR-422a to increase AKT1 axis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* [Internet]. 2020;24(19):9940–8.
 385. Liu D, Zhou D, Sun Y, Zhu J, Ghoneim D, Wu C, et al. A Transcriptome-Wide Association Study Identifies Candidate Susceptibility Genes for Pancreatic Cancer Risk. *Cancer Res* [Internet]. 2020;80(20):4346–54.

386. Zhang X, Yang J-J, Kim YS, Kim K-Y, Ahn WS, Yang S. An 8-gene signature, including methylated and down-regulated glutathione peroxidase 3, of gastric cancer. *Int J Oncol* [Internet]. 2010 Feb;36(2):405–14.
387. Seeruttun SR, Cheung WY, Wang W, Fang C, Liu Z-M, Li J-Q, et al. Identification of molecular biomarkers for the diagnosis of gastric cancer and lymph-node metastasis. *Gastroenterol Rep* [Internet]. 2019 Feb;7(1):57–66.
388. Kaneda H, Arao T, Matsumoto K, De Velasco MA, Tamura D, Aomatsu K, et al. Activin A inhibits vascular endothelial cell growth and suppresses tumour angiogenesis in gastric cancer. *Br J Cancer* [Internet]. 2011 Oct 11;105(8):1210–7.
389. Zhang C, Liang Y, Ma M-H, Wu K-Z, Dai D-Q. KRT15, INHBA, MATN3, and AGT are aberrantly methylated and differentially expressed in gastric cancer and associated with prognosis. *Pathol Res Pract* [Internet]. 2019 May;215(5):893–9.
390. Wang Q, Wen Y-G, Li D-P, Xia J, Zhou C-Z, Yan D-W, et al. Upregulated INHBA expression is associated with poor survival in gastric cancer. *Med Oncol* [Internet]. 2012 Mar;29(1):77–83.
391. Katayama Y, Oshima T, Sakamaki K, Aoyama T, Sato T, Masudo K, et al. Clinical Significance of INHBA Gene Expression in Patients with Gastric Cancer who Receive Curative Resection Followed by Adjuvant S-1 Chemotherapy. *In Vivo*. 31(4):565–71.
392. Dai Y, Yang Y, MacLeod V, Yue X, Rapraeger AC, Shriver Z, et al. HSulf-1 and HSulf-2 are potent inhibitors of myeloma tumor growth in vivo. *J Biol Chem*. 2005 Dec 2;280(48):40066–73.
393. Chen Z, Fan JQ, Li J, Li QS, Yan Z, Jia XK, et al. Promoter hypermethylation correlates with the HSulf-1 silencing in human breast and gastric cancer. *Int J cancer* [Internet]. 2009 Feb 1 [cited 2022 Sep 7];124(3):739–44.
394. Hur K, Han T-S, Jung E-J, Yu J, Lee H-J, Kim WH, et al. Up-regulated expression of sulfatases (SULF1 and SULF2) as prognostic and metastasis predictive markers in human gastric cancer. *J Pathol* [Internet]. 2012 Sep;228(1):88–98.
395. Pyagay P, Heroult M, Wang Q, Lehnert W, Belden J, Liaw L, et al. Collagen triple helix repeat containing 1, a novel secreted protein in injured and diseased arteries, inhibits collagen expression and promotes cell migration. *Circ Res*. 2005 Feb 4;96(2):261–8.
396. Stohn JP, Wang Q, Siviski ME, Kennedy K, Jin Y-R, Kacer D, et al. Cthrc1 controls adipose tissue formation, body composition, and physical activity. *Obesity (Silver Spring)* [Internet]. 2015 Aug;23(8):1633–42.
397. Zhang R, Lu H, Lyu Y-Y, Yang X-M, Zhu L-Y, Yang G-D, et al. E6/E7-P53-POU2F1-

- CTHRC1 axis promotes cervical cancer metastasis and activates Wnt/PCP pathway. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7:44744.
398. Diatchenko L, Lau YF, Campbell AP, Chenchik A, Moqadam F, Huang B, et al. Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1996 Jun 11;93(12):6025–30.
 399. Qin S, Zheng J-H, Xia Z-H, Qian J, Deng C-L, Yang S-L. CTHRC1 promotes wound repair by increasing M2 macrophages via regulating the TGF- β and notch pathways. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2019 May;113:108594.
 400. Mei D, Zhu Y, Zhang L, Wei W. The Role of CTHRC1 in Regulation of Multiple Signaling and Tumor Progression and Metastasis. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2020;2020:9578701.
 401. Ding X, Huang R, Zhong Y, Cui N, Wang Y, Weng J, et al. CTHRC1 promotes gastric cancer metastasis via HIF-1 α /CXCR4 signaling pathway. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2020 Mar;123:109742.
 402. Gu L, Liu L, Zhong L, Bai Y, Sui H, Wei X, et al. Cthrc1 overexpression is an independent prognostic marker in gastric cancer. *Hum Pathol* [Internet]. 2014 May;45(5):1031–8.
 403. Climent M, Pera M, Aymar I, Ramón JM, Grande L, Nogués X. Bone health in long-term gastric cancer survivors: A prospective study of high-dose vitamin D supplementation using an easy administration scheme. *J Bone Miner Metab*. 2018 Jul 1;36(4):462–9.
 404. Lin P, Tian P, Pang J, Lai L, He G, Song Y, et al. Clinical significance of COL1A1 and COL1A2 expression levels in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett*. 2020 Jul 1;20(1):803.
 405. Mori K, Enokida H, Kagara I, Kawakami K, Chiyomaru T, Tatarano S, et al. CpG hypermethylation of collagen type I alpha 2 contributes to proliferation and migration activity of human bladder cancer. *Int J Oncol*. 2009;34(6):1593–602.
 406. Zou X, Feng B, Dong T, Yan G, Tan B, Shen H, et al. Up-regulation of type I collagen during tumorigenesis of colorectal cancer revealed by quantitative proteomic analysis. *J Proteomics*. 2013 Dec 6;94:473–85.
 407. Lin J, Goldstein L, Nesbit A, Chen MY. Influence of Hormone Receptor Status on Spinal Metastatic Lesions in Breast Cancer Patients. *World Neurosurg*. 2016 Jan 1;85:42.
 408. Wang J, Gao P, Song Y, Sun J, Chen X, Yu H, et al. Prognostic value of gastric cancer-

- associated gene signatures: Evidence based on a meta-analysis using integrated bioinformatics methods. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2018 Nov 1;22(11):5743.
409. Zhuo C, Li X, Zhuang H, Tian S, Cui H, Jiang R, et al. Elevated THBS2, COL1A2, and SPP1 Expression Levels as Predictors of Gastric Cancer Prognosis. *Cell Physiol Biochem* [Internet]. 2016 Dec 1;40(6):1316–24.
 410. Li D, Yin Y, He M, Wang J. Identification of Potential Biomarkers Associated with Prognosis in Gastric Cancer via Bioinformatics Analysis. *Med Sci Monit* [Internet]. 2021 Feb 14;27.
 411. Li M, Wang J, Wang C, Xia L, Xu J, Xie X, et al. Microenvironment remodeled by tumor and stromal cells elevates fibroblast-derived COL1A1 and facilitates ovarian cancer metastasis. *Exp Cell Res* [Internet]. 2020 Sep 1;394(1).
 412. Li J, Ding Y, Li A. Identification of COL1A1 and COL1A2 as candidate prognostic factors in gastric cancer. *World J Surg Oncol* [Internet]. 2016 Nov 29;14(1).
 413. Li Y, Luo Y, Tian Q, Lai Y, Xu L, Yun H, et al. Integrated Bioinformatics Analysis for Identifying the Significant Genes as Poor Prognostic Markers in Gastric Adenocarcinoma. *J Oncol* [Internet]. 2022;2022:9080460.
 414. Fischer H, Stenling R, Rubio C, Lindblom A. Colorectal carcinogenesis is associated with stromal expression of COL11A1 and COL5A2. *Carcinogenesis* [Internet]. 2001 [cited 2022 Sep 5];22(6):875–8.
 415. Combined gene expression analysis of whole-tissue and microdissected pancreatic ductal adenocarcinoma identifies genes specifically overexpressed in tumor epithelia - PubMed [Internet]. [cited 2022 Sep 5].
 416. Wu YH, Chang TH, Huang YF, Huang HD, Chou CY. COL11A1 promotes tumor progression and predicts poor clinical outcome in ovarian cancer. *Oncogene* [Internet]. 2014 Jul 11 [cited 2022 Sep 5];33(26):3432–40.
 417. Zhao Y, Zhou T, Li A, Yao H, He F, Wang L, et al. A potential role of collagens expression in distinguishing between premalignant and malignant lesions in stomach. *Anat Rec (Hoboken)* [Internet]. 2009 [cited 2022 Sep 5];292(5):692–700.
 418. Gao X, Zhong S, Tong Y, Liang Y, Feng G, Zhou X, et al. Alteration and prognostic values of collagen gene expression in patients with gastric cancer under different treatments. *Pathol Res Pract* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2022 Sep 5];216(3).
 419. Li A, Li J, Lin J, Zhuo W, Si J. COL11A1 is overexpressed in gastric cancer tissues and regulates proliferation, migration and invasion of HGC-27 gastric cancer cells in vitro. *Oncol Rep* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2022 Sep 5];37(1):333–40.

420. Weng TY, Wang CY, Hung YH, Chen WC, Chen YL, Lai MD. Differential Expression Pattern of THBS1 and THBS2 in Lung Cancer: Clinical Outcome and a Systematic-Analysis of Microarray Databases. PLoS One [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2022 Sep 6];11(8):161007.
421. THBS2 is a biomarker for AJCC stages and a strong prognostic indicator in colorectal cancer - PubMed [Internet]. [cited 2022 Sep 6].
422. Peng HY, Chang MC, Hu CM, Yang HI, Lee WH, Chang YT. Thrombospondin-2 is a Highly Specific Diagnostic Marker and is Associated with Prognosis in Pancreatic Cancer. Ann Surg Oncol [Internet]. 2019 Mar 15 [cited 2022 Sep 6];26(3):807–14.
423. Sun R, Wu J, Chen Y, Lu M, Zhang S, Lu D, et al. Down regulation of Thrombospondin2 predicts poor prognosis in patients with gastric cancer. Mol Cancer [Internet]. 2014 Sep 28 [cited 2022 Sep 6];13(1).
424. Bovolenta P, Rodriguez J, Esteve P. Frizzled/RYK mediated signalling in axon guidance. Development [Internet]. 2006 Nov;133(22):4399–408.
425. Takagi H, Sasaki S, Suzuki H, Toyota M, Maruyama R, Nojima M, et al. Frequent epigenetic inactivation of SFRP genes in hepatocellular carcinoma. Springer [Internet]. 2008 May [cited 2022 Sep 11];43(5):378–89.
426. Snow GE, Kasper AC, Busch AM, Schwarz E, Ewings KE, Bee T, et al. Wnt pathway reprogramming during human embryonal carcinoma differentiation and potential for therapeutic targeting. BMC Cancer. 2009 Oct 29;9:383.
427. development PP-G&, 2000 undefined. Wnt signaling and cancer. genesdev.cshlp.org [Internet]. 2000 [cited 2022 Sep 11].
428. Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development. J Cancer Res Clin Oncol. 2003 Apr 1;129(4):199–221.
429. Li H, Zhao J, Sun J, Tian C, Jiang Q, Ding C, et al. Demethylation of the SFRP4 Promoter Drives Gastric Cancer Progression via the Wnt Pathway. Mol Cancer Res [Internet]. 2021;19(9):1454–64.
430. Kang G, Lee S, Cho N, ... TG-L, 2008 undefined. DNA methylation profiles of gastric carcinoma characterized by quantitative DNA methylation analysis. nature.com [Internet]. [cited 2022 Sep 11].
431. Nfonsam LE, Jandova J, Jecius HC, Omesiete PN, Nfonsam VN. SFRP4 expression correlates with epithelial mesenchymal transition-linked genes and poor overall survival in colon cancer patients. World J Gastrointest Oncol. 2019 Aug 15;11(8):589–98.
432. Han X, Saiyin H, Zhao J, Fang Y, Rong Y, Shi C, et al. Overexpression of miR-135b-5p

- promotes unfavorable clinical characteristics and poor prognosis via the repression of SFRP4 in pancreatic cancer. *Oncotarget* [Internet]. 2017 Sep 22;8(37):62195–207.
433. Yu P, He W, Zhang Y, Hu C, Wu Y, Wang Y, et al. SFRP4 Is a Potential Biomarker for the Prognosis and Immunotherapy for Gastric Cancer. *J Oncol*. 2022;2022:8829649.
 434. Wang X, Teng F, Kong L, Yu J. PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *Onco Targets Ther* [Internet]. 2016;9:5023–39.
 435. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2012 Mar 22;12(4):252–64.
 436. Zollinger AJ, Smith ML. Fibronectin, the extracellular glue. *Matrix Biol* [Internet]. 2017;60–61:27–37.
 437. Steffens S, Schrader AJ, Vetter G, Eggers H, Blasig H, Becker J, et al. Fibronectin 1 protein expression in clear cell renal cell carcinoma. *Oncol Lett* [Internet]. 2012 Apr 1;3(4):787–90.
 438. Wang F, Song G, Liu M, Li X, Tang H. miRNA-1 targets fibronectin1 and suppresses the migration and invasion of the HEP2 laryngeal squamous carcinoma cell line. *FEBS Lett* [Internet]. 2011 Oct 20;585(20):3263–9.
 439. Chen S-H, Lin C-Y, Lee L-T, Chang G-D, Lee P-P, Hung C-C, et al. Up-regulation of fibronectin and tissue transglutaminase promotes cell invasion involving increased association with integrin and MMP expression in A431 cells. *Anticancer Res* [Internet]. 2010 Oct;30(10):4177–86.
 440. Chong X, Peng R, Sun Y, Zhang L, Zhang Z. Identification of Key Genes in Gastric Cancer by Bioinformatics Analysis. *Biomed Res Int* [Internet]. 2020;2020:7658230.
 441. Zhang H, Sun Z, Li Y, Fan D, Jiang H. MicroRNA-200c binding to FN1 suppresses the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2017 Apr;88:285–92.