T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

MİDE KANSERLİ HASTALARDA ErbB-2 OVEREKSPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI

Dr. Habib EMRE

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Salim Başol TEKİN

Uzmanlık Tezi
ERZURUM 2009

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	II
SUMMARY	III
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Etiyoloji	3
2.2. Patoloji	7
2.3. Mide Kanseri Sınıflaması	7
2.4. Mide Kanserinin Yayılımı	10
2.5. Patolojik Evreleme ve Prognoz	11
2.6. Mide Kanserinin Klinik Özellikleri	13
2.7. Mide Kanserinin Tedavisi	13
2.8. Kanserin Moleküler Genetik Temelleri	14
3. MATERYAL ve METOD	26
3.1. Hastalar ve Örnekler	26
3.2. Analitik Metodlar	26
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇLAR	44
7. KAYNAKLAR	45
ONAY	55

ÖZET

MİDE KANSERLİ HASTALARDA ErbB-2 OVEREKSPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmada, mide kanserinde ErbB-2 overekspresyonunun sıklığı ve patolojik parametrelerle ilişkisi araştırıldı.

Çalışmaya, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ve Genel Cerrahi kliniklerinde yeni tanı almış toplam 32 hasta alındı. Endoskopi ile alınan mide biyopsisi sonucu mide adenokarsinomu tanısı konulan hastalardan tedavi öncesi periferik venöz kan alınarak DNA izolasyonu yapıldı. Aynı hastaların endoskopi veya cerrahi rezeksiyon ile alınan parafinize edilmiş tümör dokularından DNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen DNA'lardan, "Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu" ile ErbB-2 overekspresyonu araştırıldı. Patoloji Laboratuarı'nda, bu vakalara ait, histolojik tip ve diferansiyasyon derecesi, tümör invazyon derinliği ve lenf nodu metastazı durumu belirlendi. Hastalardaki uzak metastaz varlığı, TNM evresi, mide kanserinin lokalizasyonu gibi parametreler hasta dosyaları ve raporlarından belirlendi. ErbB-2 overekspresyonu ile patolojik parametreler arasındaki ilişki Ki-kare testi uygulanarak değerlendirildi.

Çalışmaya alınan 32 mide kanserli vakanın 5'inde (%15,6) ErbB-2 pozitifliği saptandı. Hastalardaki uzak metastaz ile ErbB-2 pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,04). Vakaların, diferansiyasyon derecesi (p=0,7), tümör invazyon derinliği (p=0,08), lenf nodu metastazı (p=0,6), Lauren sınıflaması (p=0,4), WHO sınıflaması (p=0,3), TNM evrelemesi (p=0,3) ve tümörün lokalizasyonu (p=0,2) ile ErbB-2 pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi. İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, ErbB-2 pozitif olan vakaların hepsinde lenf nodu tutulumunun olması, tümör invazyon derinliğine göre T3 ve T4 olması ve lokalizasyon olarak kardiada daha fazla görülmesi dikkat çeken bulgulardı. ErbB-2 pozitif olan vakaların hepsi Lauren'a göre intestinal tip, WHO'ya göre tübüler tipte görüldü.

Sonuç olarak, mide kanserinde ErbB-2 overekspresyonu söz konusu olabileceği (%15,6) görüldü.

Anahtar Kelimeler: Mide Kanseri, ErbB-2

SUMMARY

TO INVESTIGATION OF ErbB-2 OVEREXPRESSION IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

In this study, the prevalence of ErbB-2 overexpression in gastric cancer and its relationship with pathologic parameters were investigated.

Newly diagnosed 32 patients from Internal Medicine and General Surgery Clinics of Ataturk University were included. DNA isolation of the patients who were diagnosed as gastric adenocarcinoma by endoscopic biopsy has been made by taking peripheral venous blood sampling before treatment. DNA isolation from tumoral tissue of the same patients has been made by their parafinised tumor tissue that had biopsied at either endoscopic or surgical resection. ErbB-2 overexpression was investigated with "Real Time Polymerase Chain Reaction" from isolated DNA samples. Tumoral characteristics of the cases such as histological type, differentiation degree, tumor invasion depth and lymphatic node metastasis were investigated in the Pathology Laboratory. The presence of distant metastasis, TNM stage and localization of gastric cancer were obtained from records of the patients. The relationship among ErbB-2 overexpression and pathologic features was evaluated by using Chi-square test.

ErbB-2 positivity was detected in 5 (15.6%) of 32 patients with gastric cancer. The relationship between ErbB-2 positivity and presence of distant metastasis was found statistical significant (p=0.04). The relationship of ErbB-2 positivity with differentiation degree (p=0.7), tumor invasion depth (p=0.08), lymph node metastasis (p=0.6), Lauren classification (p=0.4), WHO classification (p=0.3), TNM classification (p=0.3) and the localization of the tumor (p=0.2) were not statistically significant. Although there were no significant relationships, all of the ErbB-2 positive cases had lymph node involvement, T3 or T4 tumor invasion, located commonly in cardia. All the cases with ErbB-2 positivity were intestinal and tubular types according to Lauren and WHO classifications, respectively.

In conclusion, it was observed that ErbB-2 overexpression may exist in gastric cancer cases (15.6%).

Key Words: Gastric Cancer, ErbB-2

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Gastrointestinal sistem (GİS) kanserleri tüm dünyada ve ülkemizde önemli mortalite ve morbidite nedenidir. Dünyadaki kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %20'si GİS kanserleri nedeniyledir. Ülkemiz genelinde GİS kanserleri arasında ilk sırayı mide, ikinci sırayı ise kolorektal kanserler almaktadır (1,2).

Yapı ve fonksiyonundaki değişiklikler sonucu fazla yapılarak kanser gelişimini kolaylaştıran genlere genel olarak onkogen adı verilmektedir. Onkogenler, normal hücresel genlerin (protoonkogen), karsinojenlerin etkisiyle yapısal ve fonksiyonel değişikliğe uğramış genlerdir (3).

Onkogen aktivasyonları ve tümör baskılayıcı gen inaktivasyonları, hücrenin kontrolsüz çoğalması, kontakt inhibasyonunun kaybolması, invazyon ve metastaz yeteneği kazanması gibi malign özellikler kazanmasına yol açar. Hücre proliferasyonu için gerekli olan sinyal iletim sisteminde en başta büyüme faktörü adı verdiğimiz bir dizi polipeptid bulunur. Bunlardan başlıcaları platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü alfa ve beta (TGF-α,-β), Epidermal büyüme faktörü (EGF), koloni stimulan faktörler (CSF), interlökin 2 (IL-2), insülin benzeri büyüme faktörüdür (IGF-1 ve 2). Büyüme faktörlerinin çoğu çoğalma uyarısını, hücre mebranında yer alan tirozin kinaz reseptörlere bağlanıp bunların fosforilasyonu aracılığıyla mebrana bağlı moleküllere, buradan da sitoplazmada bulunan aracı moleküllere ve en sonunda çekirdekte yer alan transkiripsiyon faktörlerine iletir. Bu yolakta rol alan genlerin herhangi birinde ortaya çıkabilecek aşırı aktivasyon (onkogen aktivasyonu) kontrolsüz çoğalma ile sonuçlanabilmektedir (3).

Çok sayıda büyüme faktörü ve onkogen ürünlerinin farklı kontrol noktalarında etkili olarak hücre çoğalmasında ve tümör gelişmesinde rol aldığı düşünülmektedir. Bunlar arasında kuvvetli mitojenler olan TGF-α, EGF, PDGF, IGF ve bunların reseptörleri bulunmaktadır. Özellikle bu faktörlerin reseptörleri protoonkogenler tarafından kodlanırlar. Örneğin EGF resptörü ErbB-1 proto-onkogeni tarafından kodlanmaktadır. Bu reseptör hem EGF ve hemde TGF-α' yı bağlayabilmektedir. Büyüme faktörleri ve özellikle tirozin kinaz aktivitesine sahip büyüme faktörü reseptörleri, büyümenin kontrolünde rol alan sinyal iletim akışını aktive ederek, büyüme

ve çoğalma ile ilgili, birçok genin regülasyonunda rol oynar. Söz konusu bu büyüme faktörlerinin ve onkogen ürünlerinin fazla yapılması veya mutasyona uğramış formlarının ortaya çıkması, hücre döngüsündeki düzenleyici kontrol noktalarının fonksiyon kaybına ve sonuçta kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olur (3).

ErbB gen ailesi, dört homolog gen ailesinden oluşur. Bunlar ErbB-1 (EGFR, HER1), ErbB-2 (HER2/Neu, c-erbB-2), ErbB-3 (HER3) ve ErbB-4 (HER4). ErbB reseptörlerinin insan neoplastik dokularında overekspresyonu ve amplifikasyonu bilinmektedir. ErbB reseptör overekspresyonunun prognostik ve terapotik önemi vardır. ErbB-2 pozitif, meme kanseri olan hastalarda ErbB-2 ye karşı geliştirilen humanize antikor (Trastuzumab) tedavide kullanılmaktadır. Yine ilerlemiş non small cell akciğer kanserinde ErbB-1'in tirozin kinaz bölgesi için inhibitör geliştirilmiş (Gefitinib) ve klinik kullanım için onaylanmıştır (4,5).

Bu çalışmada, Erzurum ve çevresinde sık olarak karşılaşılan mide kanserlerinde, ErbB-2 overekspresyonunun sıklığı ve patolojik parametrelerle ilişkisi araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

Mide kanseri en sık rastlanan kanserlerden birisidir. Dünyada görülme sıklığı bölgeden bölgeye büyük oranda değişir. Japonya, Şili, Finlandiya, Kosta Rika, Kolombiya, Portekiz, Rusya ve Bulgaristan gibi ülkelerde sık görülür. Batı Avrupa, Yeni Zellanda, Avusturalya daha nadir görüldüğü ülkelerdir. Türkiye'de gastrointestinal kanserlerde ilk sırada, tüm kanserlerde üçüncü sırada yer alır. Sağlık Bakanlığının son istatistiklerine göre Erzurum'da mide kanseri erkeklerde ilk sırayı, kadınlarda ikinci sırayı almaktadır (2,6,7).

Mide kanseri erkeklerde kadınlardan yaklaşık 2 kat daha fazla görülmekte olup geç dekatlarda daha fazla görülmektedir. Mide tümörlerinin çoğu mide epiteli kaynaklı olup genellikle malignndir. Nadir de olsa kas, yağ ve lenfoid dokulardan da köken alan mide tümörleri görülmektedir. Tümörlerin % 95'i adenokarsinom tipindedir. Kalan % 5'lik kısmı lenfomalar, polipler, karsinoidler, leiomyosarkomlar, lipomlar, liposarkomlar ve midenin metastatik tümörleri oluşturmaktadır. Endoskopik görünüm olarak % 40-50 oranında polipoid kitle şeklindedir. Bunun ardından en sık görülen şekil ülseratif biçimdir. En az görülen yüzeyel yaygın tip ise % 2-7 oranında görülür (8).

2.1. ETİYOLOJİ:

Mide kanseri birçok faktörle ilişkili bulunmuştur (Tablo 1) (8,9).

Tablo 1: **Mide Kanserinde Risk Faktörleri**

Yüksek kanser riski olanlar	**Düşük kanser riski olanlar**
Ailede mide kanseri varlığı	O kan grubu
A kan grubu	Kadın cinsiyet
Erkek cinsiyet	Yüksek sosyoekonomik düzey
İleri yaş	Genç yaş
Tütsülenmiş tuzlu yiyecekler	Normal mide sekresyonu
Düşük A ve C vitamini alımı	
Sigara ve alkol kullanımı	
Premalign lezyonlar	
Helicobacter Pylori	

2.1.1. Genetik Faktörler: A kan grubu olan kişiler diffüz tip mide karsinomu için genetik yatkınlık gösterirler. Aile hikâyesi, vakaların %8-10'unda mevcuttur. Mide karsinomu herediter nonpolipozis kolon kanseri ve familyal adenomatöz polipozis sendromunun bir parçası olarak da gelişebilir. Vakaların %1-3'ünde herediter diffüz gastrik kanser olarak bilinen E-cadherin gen mutasyonları tanımlanmıştır. Mide karsinomları, ayrıca, p53 (Li-Fraumeni sendromu) ve BRCA2 gen mutasyonu olan ailelerde de gelişebilir (10,11).

2.1.2. Etnik Faktörler: Asya ve batı ülkelerindeki karşılaştırmalı çalışmalar, mide karsinomu insidansı ve sağ kalımında belirgin farklılıklar göstermektedir. Bu durum da olası risk faktörü olarak etnik orjini desteklemektedir. Yüksek insidanslı bölgelerden düşük insidanslı bölgelere göç eden ilk kuşakta risk oranı kendi ülkelerindekine benzer olmasına rağmen, sonraki kuşaklarda bu oran yerleştikleri bölgeye uymaktadır. Bu durum etiyolojide etnik faktörlerden çok çevresel faktörlerin önemli olduğunu desteklemektedir (10,11).

2.1.3. **Sosyoekonomik Faktörler**: Mide karsinomu düşük sosyoekonomik çevrelerde daha sıktır ve mortalite oranı daha yüksektir. Bu oran çocukluk çağlarında kalabalık ailede yaşama ve Helicobacter Pylori geçişi ile ilgili olabileceğini düşündürmüştür (10,12).

2.1.4. Sigara: Mide karsinomu ve sigara arasındaki bağlantı çok belirgin olmamakla beraber sigaranın, kardia lokalizasyonlu karsinomlarda belirgin olmak üzere risk artışına neden olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (10,9).

2.1.5. Diyet: Mide karsinomu, tümör gelişiminde diyet faktörünün kritik rol oynadığı prototip bir kanserdir. Mide karsinomu, yüksek oranda kompleks karbonhidrat, tuz ve nitrat alımı, düşük oranda taze yeşil sebze ve meyve alımı ile ilişkilidir. Aşırı tuz alımı, mide mukozasında atrofik değişiklikerle ilişkilidir. En önemli karsinojen ajanın N-nitros bileşikleri olduğu ve bu bileşiğin soya fasulyesi, ızgara ve buğulama et gibi besinlerde yüksek oranda olduğu bildirilmektedir (13-15).

2.1.6. Radyasyon: Radyasyonla karşılaşma midede doz bağımlı karsinojenik etki gösterir. Malign lenfoma nedeniyle kemoterapi ve radyasyon tedavisi alan gençlerde, tedavi sonrası gelişen mide karsinomu vakaları bildirilmistir (12).

2.1.7. Helicobacter Pylori (HP) Enfeksiyonu: Kronik HP enfeksiyonu, mide karsinomu gelişme riskini 5-6 kat arttırır. Bakteriyel enfeksiyon; kronik gastrit, atrofi, intestinal metaplazi, displazi ve son aşama olarak karsinom gelişimine neden olur. Bu ilerleyici değişiklikler, bakteriyel proteinlerin varlığına ve konak immun yanıtına bağlıdır. Uzun süreli mukozal inflamasyon, asit ve pepsin sekresyonunu azaltır. Bu da bakteriyel üremeye, kronik inflamasyonun devamına ve mukoza epitel hücre proliferasyonuna neden olur. Böylece genomik mutasyon riski artar. Artmış oksidatif stres de DNA hasarına neden olur (10). Ayrıca, Cag-A proteini eksprese eden HP suşlarının daha virilan olduğu ve Cag-A pozitif vakalar, Cag-A negatif ve noninfekte vakalarla karşılaştırıldığında mide karsinomu riskinde artışın daha belirgin olduğu bildirilmektedir (12,16).

2.1.8. Önceki Gastrik Rezeksiyon: Benign nedenlerle yapılan parsiyel gastrektomiyi takiben gastrik kalıntılarda, mide karsinomu gelişme riski konusunda tartışmalı sonuçlar vardır. Bu grupta mide karsinomu gelişme riskinin, genel populasyondaki riskten daha yüsek, eşit ve hatta düşük olduğunu bildiren yayınlar vardır (17). Bazı yazarlar, benign nedenlerle yapılan parsiyel gastrektomiyi takiben 5 yıl ve daha sonrasında gelişen karsinomları gastrik kalıntı kanseri olarak tanımlamışlardır (18)**.** Tersmette ve ark. (19), çalışmalarında postoperatif 5-14 yıl arasında rölatif riski 0.91, 15 yıldan sonra 1.48 olarak saptamışlardır**.** Başka bir çalışmada, operasyondan 15 yıl sonra gastrik kalıntı kanseri gelişme riski artışı kabaca 2-4 kat olarak belirlenmiştir (20). Gastrik kalıntı kanserinin etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte, mideye alkalen intestinal içeriğin reflüsüyle oluşan mukozal hasar veya postoperatif hipoklorhidriye bağlı olarak bakterilerin aşırı proliferasyonu suçlanmaktadır (18).

2.1.9. Predispozan Mide Lezyonları:

Kronik Atrofik Gastrit ve İntestinal Metaplazi: Kronik atrofik gastrit ve intestinal metaplazi uzun süreli inflamasyona yanıt olarak oluşur. Her iki lezyon, özellikle yüksek riskli bölgelerde, genellikle intestinal tip mide karsinomunun

öncesinde bulunur veya karsinoma eşlik eder (12)**.** Atrofik gastrit, genellikle distal midede multifokal olarak başlar. Odaklar zamanla birleşerek geniş alanlara yayılır ve mide asit üretiminin azalmasına neden olur. Atrofik gastrit, metaplazi, displazi ve karsinoma ilerleyebilir. İntestinal metaplazi, sıklıkla intestinal tip karsinoma eşlik eder. Oysa diffüz tip karsinomlu hastalarda intestinal metaplazi prevalansı genel populasyonla benzerdir. Bazı araştırmacılar, mide karsinomunun yüksek oranda görüldüğü bölgelerde, atrofik gastrit ve intestinal metaplazi prevalansının yüksek olduğunu göstermişlerdir (21).

Displazi: Mide mukozasının neoplastik fakat noninvaziv lezyonları için displazi terimi kullanılır. Bazı yazarlar displazinin intraepitelyal karsinomu da içine aldığını belirtmektedir. Displaziler, gastrit ve peptik ülser gibi mukozal hasar bölgelerinde görülen rejeneratif hiperplaziden ayırt edilmelidir (10,11).

Hiperplastik Polipler: Hiperplastik poliplerde karsinom gelişimi %2 gibi çok düşük oranda bildirilmektedir. Hiperplastik polip zeminindeki karsinom gelişimi, polip zemininde var olabilecek displastik glandların varlığına bağlıdır (12).

Mide Ülseri: Peptik ülser hastalığı, mide karsinomu açısından risk teşkil etmez. Peptik ülseri olan hastalarda görülen gastrik karsinomların patogenezinde, peptik ülsere eşlik eden uzun süreli kronik gastrit zemininde gelişen displazilerin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, peptik ülser nedeniyle parsiyel gastrektomi yapılan hastalarda rezidüel mide kalıntısında, hafif artmış sıklıkta mide kanseri gelişimi riski vardır (10,22).

Hiperplastik Gastropatiler: Epitel hücre hiperplazisi kaynaklı mukozal hipertrofiler 3 türlü olabilmektedir:

1-Menetrier Hastalığı: Foveolar hiperplazi ve glandüler atrofi şeklindedir. Lamina propriada inflamasyon belirgin değildir. Mukozal hiperplazinin metaplastik hale gelerek mide karsinomu gelişimine neden olabileceği belirtilmektedir.

2-Hipertrofik–Hipersekretuvar Gastropati: Mide glandlarında parietal hücre ve esas hücre hiperplazisi ile birliktedir.

3-Zollinger-Ellison Sendromu: Gastrinoma zemininde aşırı gastrin sekresyonuna bağlı gelişen belirgin parietal hücre hiperplazisi ile birlikte bir kısmı kistik genişlemeler gösteren gland hiperplazisi görülür (10).

2.2. PATOLOJİ:

Mide kanserinin % 90-95'i adenokarsinom, %5'i suquamoz hücreli kanserler ve lenfomalar, %2'si stromal tümörler, karsinod tümörler, leiomyosarkomlar ve diğerleri (leiomyom, granüler hücreli tümör, glomus tümörü, kaposi sarkomu, karsinoid tümör) olarak sıralanmaktadır (10).

Mide kanserlerinin midedeki lokalizasyonu sırasıyla %50-60'ı pilor ve antrumda, %25'i kardiada ve geri kalanı mide korpusu ve fundusdadır. Sonuç olarak, en sık yerleştiği bölge antropilorik bölgenin küçük kurvatur bölümüdür. Ancak son yıllarda sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte, proksimal mide kanseri sıklığında artış görülmektedir (10).

2.3. MİDE KANSERİ SINIFLAMASI

2.3.1. Erken-İlerlemiş Gastrik Karsinom: Tedavi ve prognostik bakımdan gastrik karsinomda en önemli sınıflama, invazyon derinliğine göre yapılan erken ve geç gastrik karsinom sınıflamasıdır (23).

Erken gastrik karsinom**,** lenf nodu metastazı bulunup bulunmadığına bakılmaksızın mukoza ve submukozaya sınırlanmış olan gastrik karsinom olarak tanımlanmıştır. Erken gastrik karsinom, ilk olarak Japonya'da gastrik kanser için uygulanan büyük tarama programları sırasında saptanmıştır. Daha az görülmesine rağmen Birleşik Devletler'de de benzer sonuçlar elde edilmiştir (23). Erken gastrik karsinomlar 2 kategoriye ayrılır:

1. İntramukozal, bazal membranı aşan, lamina propriayı aşmayan karsinom.
2. Submukozal karsinom.

Japon Endoskopi Birliği erken mide kanserini üç tipe ayırmıştır (Tablo 2) (24).

Tablo 2: Japon Endoskopi Birliği Erken Mide Kanseri Sınıflaması

Tip 1	Lümene 5 mm den fazla protrüde
Tip 2a	Lümene 5 mm den az protrüde, eleve
Tip 2b	Yassı lezyon
Tip 2c	Muskularis mukozadan ilerisini penetre etmiyor, deprese
Tip 3	Muskularis mukozayı penetre ediyor, fakat muskularis propriayı penetre etmiyor, deprese

Erken gastrik karsinom makroskopik görünüm temelinde başlıca 3 grupta toplanır; polipoid, yüzeyel ve ülsere. Yüzeyel olan da, yükselmiş, düz ve deprese olarak gruplanır. Erken gastrik karsinomların yaklaşık %80'i yüzeyel tip olup, diğerlerinin her biri %10 oranında bulunur. Erken gastrik karsinomların tek bir alt grubu dışında daha yaşlı vakalarda oluşur. Bu da ekskave ile büyük erode tiptir ve daha çok ülser semptomları gösteren, genç ve orta yaşlı vakalarda baskın olarak bulunur (23,25).

Erken gastrik karsinomda geleneksel mikroskopik bulgular, ilerlemiş gastrik kanser ile aynı histolojik spektrumu gösterir; iyi diferansiye tübüler, tübülopapiller veya pilorikardiyak gland adenokarsinomu, müsinöz, az diferansiye karsinom ve taşlı yüzük hücreli karsinom. Genelde iyi diferansiye karsinom intestinal metaplazi ile ilişkilenmiş olup, daha yaşlılarda oluşma eğilimindedir. Oysa az diferansiye ve taşlı yüzük hücreli karsinomlar intestinal metaplazi ile ilişkilenmeksizin daha genç hastalarda görülür (25).

Erken gastrik kanserde cerrahi sonrası hastalar için prognoz çok iyidir. Bu vakalarda 5 yıllık sağkalım oranı %95'tir. Birleşik Devletler'de daha düşük olup, %70'dir. Bu durum Japonya ve Amerika'da karsinom ve displazinin farklı tanımlanmasına bağlı olabilir (26). Erken gastrik karsinomda invazyonun paterni lamina propriadaki birkaç hücreden, submukozanın büyük bir kısmını tutan ve muskularis propriayı aşağıya doğru iten büyük ve iyi sınırlanmış kitlelere değişir. Son bahsedilen durumda sağkalım oranı %65'tir. Bazı erken tümörler 10 cm ve üzerinde çapta olup,

gastrik mukozanın büyük alanlarını örter ve henüz muskuler tabakaya invazyon göstermez. İntramukozal karsinomlar için lenf nodu metastazı olasılığı %0-4 arasıdır ve 5 yıllık sağkalım oranı lenf nodu metastazı olmaksızın %94, varsa %92'dir. Karşılığında submukozal invazyonlu erken gastrik karsinomun lenf nodu metastazı olasılığı %15 kadardır. Lenf nodu metastazı olan ve olmayanlarda 5 yıllık sağkalım oranı sırasıyla %89 ve %80'dir. Erken gastrik karsinomlarda paradoksal olarak tübüler karsinomlar, taşlı yüzük hücreli karsinomlardan daha kötü bir prognoza sahiptir. Bu taşlı yüzük hücreli karsinomların direkt ve lenfatik invazyonlarına karşılık, tübüler karsinomların kan akımına doğru yayılmaları sebebiyledir (25).

İlerlemiş gastrik karsinom, 2/1'lik bir erkek/kadın oranı ile primer olarak orta ve daha ileri yaşlıları etkileyen bir neoplazmdır. İlerlemiş gastrik karsinom submukoza tabakasını aşmış, muskularis eksternayı infiltre etmiş ve bu tabakayı aşmış karsinomlar için kullanılan bir terimdir. Bütün gastrik kanserlerin, zamanla gelişme gösteren erken lezyonlar şeklinde başladığı düşünülmektedir (23,25).

2.3.2 Lauren Sınıflaması: 1965 de Lauren, mide kanserini mikroskopik özelliklerine göre, intestinal tip ve diffüz tip olarak ikiye ayırdı.

İntestinal tip erkekler ve yaşlılarda genel olarak daha sık görülmektedir. Mide kanserinin epidemik olduğu bölgelerde bu tipe sık rastlanır. İntestinal tipin etiyolojisinde atrofik gastrit ve intestinal metaplazi gibi prekanseröz lezyonlar ile çevresel faktörlerin (beslenme tarzı vb.) rol aldığı belirlenmiştir. İntestinal tip makroskopik olarak genellikle egzofitik, vejetan ya da polipoid görünümdedir. Gastrik mukus hücrelerinden geliştiği, hücre metaplazisine uğradığı, bu hücrenin duvarı invaze ederek kaba kitleler şeklinde büyüdüğü bilinmektedir.

Diffüz tipte prekanseröz lezyonların rolü yoktur. Endemik alanlarda en sık karşılaşılan tiptir. Kadın ve genç yaşlarda daha sık görülmektedir. Ailevi geçiş de söz konusudur. Diffüz tip makroskopik olarak irregüler, kenarları yüksek, kabartılı, kraterler şeklinde ülserleşme eğilimi gösterir. Bazen bu tip, mukozayı düzleştirerek mide duvarının endüratif olarak kalınlaşmasına neden olur (Linitis plastika). Mikroskobik olarak diffüz tip gastrik mukus hücrelerinden gelişir. Diffüz tip glandüler eğilimle değil, dağılmış hücre ya da hücre gruplarının mide duvarına invazyon göstermesiyle

karakterizedir. Mukus sekresyonu sıklıkla hücreleri genişleterek nükleusu perifere doğru iter ve taşlı yüzük görünümü verir (27).

2.3.3 Borrman Sınıflaması: Kanserin makraskopik görünümü esas alınarak yapılan sınıflamadır: Tip I (polipoid), Tip II (fungiform-ülserovejetan), Tip III (ülsere) Tip IV (infiltratif) (28).

2.3.4. Ming Sınıflaması: Mide kanserinin büyüme şekline göre yapılan sınıflandırmadır (29):

1. Koheziv hücre grupları gibi büyüyen ekspansif tümör
2. Diffüz olarak infiltratif bir sınıra sahip infiltratif tümör

2.3.5. WHO Sınıflaması: Tümörün değişik büyüme ve histolojik özelliğine göre yapılmıştır: Adenokarsinom (intestinal, diffüz), papiller, tübüler, müsinöz, taşlı yüzük hücreli, adenoskuamöz karsinom, skuamöz hücreli karsinom, indifferansiye karsinom (30).

2.3.6. Diferansiyasyon Sınıflandırması: Mide kanserinin histolojik diferansiyasyonuna göre yapılan sınıflandırmadır: İyi diferansiye, orta derecede diferansiye, az diferansiye, andiferansiye (23).

2.3.7. Goseki Sınıflaması: Tübüler diferansiyasyon ve sitoplazmada mukus değerlendirmesine göre dört gruba ayrılır. Tip 1 de tübüler diferansiyasyon iyi, sitoplazmada mukus az, tip 2 de tübüler diferansiyasyon iyi, sitoplazmada mukus fazladır. Tip 3 de tübüler diferansiyasyon kötü, sitoplazmada mukus az, Tip 4 de tübüler diferansiyasyon kötü, sitoplazmada mukus fazladır (31).

2.4. MİDE KANSERİNİN YAYILIMI:

Gastrik adenokarsinomlar, karakteristik olarak mukozadan submukozaya, muskularis propriaya, subserozal dokulara doğru lokal yayılım ile progrese olur ve çevre organlara ve peritoneal kaviteye de yayılabilir. Midenin distal yerleşimli karsinomları vakaların çoğunda duodenumu invaze ederken, proksimal karsinomları özofagusu invaze eder. Serozal yayılım sıktır ve serozal yayılımın derecesi ekspansif tümörlerden çok infiltratif tümörlerde daha fazladır. Omentum, kolon, pankreas ve dalağa da lokal yayılım görülür. Midenin zengin mukozal ve submukozal lenfatik

pleksusları sıklıkla invaze olur ve tümör perigastrik, paraaortik ve çölyak bölge lenf nodlarına yayılabilir. Distal 1/3 tümörlerde, hepatoduodenal nodların tutulumu yüksektir. Tümör hücreleri barsağın lenfatik pleksuslarına da yayılabilir. En sık uzak metastaz bölgeleri, karaciğer, akciğer, adrenal gland, beyin ve overlerdir. Gastrik karsinom kaynaklı bilateral ovarian neoplaziler ile karşılaşılabilir (Krukenberg tümörü). Uterus ve servikse de metastazlar olabilir. Anlaşılması güç nedenlerle gastrik karsinomlar sıklıkla bir okkült (gizli) neoplazmın ilk klinik manifestasyonu gibi supraklaviküler sentinel (Wirchow nodülü) noda metastaz yapabilir. Tümör subkutan bir nodül formunda, periumblikal bölgeye metastaz yapabilir. Bu nodül daha önce metastatik karsinomun bir belirleyicisi gibi bu lezyonu not etmiş olan kişinin adı ile ‘‘Sister Mary Joseph nodülü’’ olarak isimlendirilmiştir. Diffuz tip mide karsinomu, intestinal tipten daha yaygın disseminasyon paterni gösterir. Periton, akciğer ve overlere yayılım daha sıktır. Karaciğer metastazları intestinal tipte daha yaygındır (12,25).

2.5. PATOLOJİK EVRELEME ve PROGNOZ

Evreleme de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) veya Amerikan Kanser Komitesi Birliği’nin (AJCC) 1997’de belirlediği TNM evrelemesi kullanılmaktadır (Tablo 3) (30,32)**.**

Primer tümörün evresi derinliğine, seroza tutulumu ve tutulum yaygınlığına ve tutulan lenf nodu sayısına göre belirlenir. Tümörün evresi ile prognoz arasında belirgin bir ilişki vardır**.** Erken gastrik karsinomlu hastaların prognozu genellikle çok iyidir ve 5 yıllık sağkalım oranı % 90-95’ e ulaşmaktadır**.** Tümörün serozayı aşması ve lenf nodu tutulumu, sağ kalımı kısaltan en önemli kriterlerdir. Bunların yanında yaş, cinsiyet, tümör boyutu, tümörün histolojik tipi ve diferansiyasyon derecesi, tümörün makroskopik tipi, yerleşim yeri, uygulanan cerrahi yöntem prognoza etkili diğer faktörlerdir (33,34)**.**

Tablo 3: WHO-2000 TNM Evrelemesi:

Primer Tümör (T): Birincil faktör kanserin mide duvarına penetrasyonunun derecesini gösterir.

TX: Değerlendirilemeyen primer tümör

T0: Primer tümöre ait kanıt mevcut değil.

Tis: İn situ karsinom; Lamina propriaya invazyon göstermeyen intraepitelyal tümör.

T1: Tümör lamina propria veya submukozada sınırlıdır.

T2: Tümör muskularis propria veya subserozada sınırlıdır.

T3: Tümör komşu dokulara (dalak, transvers kolon, diafragma, pankreas, abdominal duvar, adrenal bez, böbrek, ince barsak, retroperiton) invazyon göstermeden serozayı penetre etmiştir.

T4: Tümör komşu dokulara invazedir.

Nodal tutulum: Bölgesel lenf nodları; büyük ve küçük kurvatur boyunca bulunan perigastrik lenf nodları ve çölyak, splenik, hepatik, sol gastrik arter boyunca uzanan lenf nodlarıdır. Diğer abdominal lenf nodları uzak metastaz olarak kabul edilmiştir.

NX: Bölgesel lenf nodu tutulumu değerlendirilemedi.

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı mevcut değildir.

N1: Metastazlı bölgesel lenf nodu sayısı 1-6 arasıdır.

N2: Metastazlı bölgesel lenf nodu sayısı 7-15 arasıdır.

N3: Metastazlı bölgesel lenf nodu sayısı 15'den fazladır.

Uzak metastaz:

MX: Uzak metastaz değerlendirilemedi.

M0: Uzak metastaz mevcut değildir.

M1: Uzak metastaz mevcuttur.

Bu bilgilere göre mide kanseri TNM evrelemesi şöyle oluşturulmuştur:

Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Evre II	T1	N2	M0
	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre IIIA	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N1	M0
Evre IIIB	T3	N2	M0
Evre IV	T4	N1-N3	M0
	T1-T3	N3	M0
	T1-T4	N0-N3	M1

2.6. MİDE KANSERİNİN KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Mide kanseri, genellikle hastalığın geç dönemlerine kadar klinik bulgu vermez. Semptomlar; kilo kaybı, abdominal ağrı, iştahsızlık, kusma, daha az sıklıkla yutma güçlüğü, anemi semptomları ve kanamadır. Bu semptomlar nonspesifiktir ve bu nedenle mide karsinomlarının erken saptanması zordur.

Fizik muayenede, ilerlemiş tümöre sahip hastalarda, palpasyonda abdominal kitle, kaşeksi, barsak tıkanıklığı, asit, hepatomegali ve alt ekstremite ödemi bulunabilir. Rektal incelemede, overlere (Krukenberg tümörü) veya pelvik bosluklara (cul-de-sac) yayılım saptanabilir. Supraklavikular lenf noduna (Virchow nodülü), sol aksiller lenf noduna (İrish nodu) veya periumbilikal lenf noduna (Sister Mary-Joseph nodülü), metastazlar saptanabilir. Hematojen metastazlar en sık karaciğer ve akciğere olur.

Laboratuar testlerinde, anemi (%42), hipoproteinemi (%26), anormal karaciğer testleri (%26), dışkıda gizli kan (%40) görülebilir.

Mide karsinomunun yüksek insidansta olduğu bölgelerde, özellikle Japonya'da, endoskopi, sitoloji ve biyopsi gibi yöntemlerin kullanımı sonucu, erken mide kanserinin saptanma oranı artmıştır ve bu sayede bu bögelerdeki sağkalım oranları da paralel olarak artmıştır (13,35).

2.7. MİDE KANSERİNİN TEDAVİSİ

Mide kanserinde küratif tedavi radikal cerrahidir. Ancak, tümör yatağında ve bölgesel lenf düğümlerinde lokal başarısızlık ve hematojen veya peritoneal yolla uzak metastaz hala yüksektir. Bu nedenle adjuvan tedaviler gündeme gelmiştir. Adjuvan tedavi seçeneği olarak tek başına kemoterapi veya radyoterapi, uzun dönem sağ kalımı değiştirmemiştir. 1980'den bu yana yayınlanan randomize çalışmaların meta-analizinde, küratif çıkarılan lokalize mide kanserlerinde cerrahi sonrası uygulanan 5-Florourasil (5-FU) içeren kemoterapi rejiminin sağ kalıma yararı olmadığı gösterilmiştir. 'The British Stomach Cancer Group' tarafından yapılan prospektif randomize bir çalışmada, cerrahi sonrası tek başına radyoterapinin, lokal başarısızlığı % 27'den % 10.6'ya düşürmesine rağmen, sağ kalıma yararı gösterilememiştir. ABD'de, adjuvan ''external-beam radyoterapi'' ile kombine kemoterapi birlikte değerlendirilmiştir. Faz III intergroup çalışmasında, tamamen çıkartılmış evre I-evre IV, M0 mide veya gastroözefageal

bileşke adenokarsinomu olan 556 hasta çalışmaya alınmış, bu hastalar tek başına cerrahi veya cerrahiye ek olarak postoperatif kemoterapi (5-FU ve lökovorin) ve eş zamanlı radyoterapi (45 Gy) almak üzere randomize edilmiştir. Ortalama 5 yıllık izlem sonunda, kombine tedavinin sağ kalım üzerine anlamlı yararı olduğu rapor edilmiştir**.** Ortalama sağ kalım, tek başına cerrahi yapılan kolda 27 ayken, adjuvan kemoradyoterapi alan grupta 36 ay saptanmıştır. 3 yıllık sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım oranları adjuvan kemoradyoterapi alan grupta % 50 ve % 48 iken tek başına cerrahi yapılanlarda % 41 ve %31'dir. Neoadjuvan kemoradyoterapi tedavisi hala klinik değerlendirme altındadır (35-37).

2.8 KANSERİN MOLEKÜLER GENETİK TEMELLERİ

Kanserin moleküler genetik temelinin anlaşılması için, son yıllarda birçok araştırma yapılmış ve bu konuda kayda değer ilerlemeler sağlanmıştır. Kanser, uzun zaman süreci içinde, genetik materyalin mutasyonlar etkisi ile hasara uğraması sonucu oluşur. Malign dönüşüme yol açan bu genetik hasar etkiledikleri hücresel mekanizmalara göre 4 gruba ayrılabilir. Bunlar büyüme ve hücre çoğalmasını teşvik eden protoonkogenlerin aktivasyonu, hücre çoğalmasını denetleyen tümör baskılayıcı genlerin inaktive olması, programlanmış hücre ölümü ve apopitozu düzenleyen genler ve DNA onarım enzimlerinin inaktivasyonu olarak sıralanabilir. Karsinogenezis, bu yaşamsal hücresel yönetim ve denetim mekanizmalarının devre dışı kalması sonucu kontrolsüz hücre çoğalması, çevre dokuların invazyonu ve uzak organlara metastaz sürecini kapsar (38).

Normal hücre büyümesini teşvik eden genler, protoonkogenler olarak bilinir ve nokta mutasyonlar, amplifikasyon veya regülasyonun bozulması ile bu genler onkogenlere dönüşürler. Mutasyon hasarı sonrası protoonkogenler fonksiyon kazanımıyla tanımlanırken, bir diğer kanser geni sınıfı olan tümör baskılayıcı genler, maligniteye fonksiyon kaybıyla katkıda bulunurlar. Onkogenler aktive olduklarında, kanser oluşumunu indükleyen proteinlerin yapımını artırırken, tümör baskılayıcı genlerse işlevleri bloke edildiğinde, kansere neden olurlar. Onkogen aktivasyonu, tümörün invazyonu, metastazı ve anaplastik özellik kazanmasını sağlamaktadır (39).

Tümör süpresör genler (TSG) hücresel proliferasyonu baskılar ve her biri ayrı yolaklarda fonksiyon görürler. Tek bir anormal tümör baskılayıcı alelin varlığı kanser

oluşumu için yeterli olmayıp diğer genetik bölgelerde de lezyonların varlığı gereklidir. TSG‘lerde her iki alelde mutasyon varsa gen heterozigotluğunu kaybeder ve mutasyon açısından homozigot olur, buna LOH (loss of heterozygosity) kaybı denir. TSG‘lerde olan fonksiyon kaybı düzensiz hücre büyümesi ile sonuçlanır ve onkojenik özellik kazanmasına neden olur (40,41).

Gastrointestinal kanserlerin çoğunluğu, mukozaya zarar veren ve mukozanın kendini onarma kabiliyetini engelleyen çevresel faktörler sonucu gelişir. Bu cevap kısmi olarak protoonkogenlerin ve TSG’lerin ürünleri olan inhibitör ve stimülatör faktörler tarafından salgılanır. Normal gastrointestinal epitel hücrelerinin, invaziv kansere dönüşümünün moleküler temeli, daha yeni aydınlanmaktadır. Bugüne kadar gastrointestinal tümörlerde bulunan kromozomal değişiklikler tam olarak tanımlanmamıştır ve uzun süredir kullanılmakta olan geleneksel sitogenetik teknikler, tümör hücrelerinden elde edilen mitotik hücrelerin sayısının düşüklüğü nedeniyle tam başarılı olamamaktadır. Kolonik karsinogenezise benzer olarak, hem onkogenleri hemde TSG’leri içeren çok sayıda genetik aberasyonlar tanımlanmıştır. TSG ile ilgili olarak 1p, 5q, 7q, 12q, 13q, 17p, 18q ve Y kromozomlarındaki heterozigosite kaybı, p53 ve DCC (deleted in colorectal carsinoma), APC (adenomatozis polypozis coli) genlerindeki inaktivasyona mide kanserli hastalarda değişik oran ve sıklıkta rastlanmaktadır. Onkogenlerden c-Ki-ras, ErbB-2, K-sam, hst/int-2, c-met ve c-myc genlerindeki mutasyonlar, amplifikasyonlar veya overekspresyonlar mide kanserinin patogenezinde değişik sıklıklarda yer alır (40,41).

Mide kanserinde p53 geni mutasyonları ile tümör invazyon derinliği, lenf nodu metastazı ve kötü klinik sonuç arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır (42). APC gen mutasyonları, mide adenomatöz lezyonlarında tespit edilmiştir. Bu durum, bu mutasyonların erken karsinogenezde rol oynadığına işaret etmektedir (40,43).

EGF, ona yakın peptid TGF-α ve onların ortak EGFR’ü, gastrointestinal mukozada hücre proliferasyonu ve diferansiasyonunun kontrolünde önemlidir ve gastrik karsinogeneziste önemli rol aldığı düşünülmektedir. Aynı tümörde, bu reseptörün ve onun ligandı olan EGF‘ün birlikte bulunması kötü prognoza işaret eder (44). Mide kanserlerinin önemli bir kısmında (özellikle iyi diferansiye kanserlerde), EGFR, EGF ve

ErbB-2 onkogen ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir. Genelde ErbB-2 ekspresyonu gösteren tümörler, lenfatik invazyonu ve metastazları daha erken yapar ve küratif rezeksiyon sonrası kısa sağ kalımla beraberlik gösterir (45).

Mide kanserlerinin diffüz büyüme paternlerinin, E-cadherin gen mutasyonları ile birlikteliği saptanmıştır. Bu gen, bir hücre yüzeyi yapışma molekülünü kodlamaktadır (46). Mide kanserinde rol oynayan genler ve kromozomlar tablo 4 de özetlenmiştir.

Tablo 4: Mide Kanserinde Genler ve Kromozomlardaki Değişiklikler

Gen Lokusu Nükleotidler (kb)		Kromozomlar	Ağırlık (kDa)	Genetik değişiklik
Onkogenler				
K-ras	50	12P12.1	NDA/21	Mutasyon
C-erB-2	NDA	17q21-q22	138/gp185	Amplifikasyon
hst-1	11	11q13.3	22/22	Amplifikasyon
int-2	10	11q13	27/27,5-31,5	Amplifikasyon
met	NDA	7q31	155,5/gp190	Amplifikasyon
myc	6-7	8q24	49/64-67	Amplifikasyon
Tümör Supresör Genler				
P53	12,5	17p13.1	43.5/53	LOH,mutasyon
APC	120	5q21	312/≈300	LOH,mutasyon
DCC	1400	18q21	153/gp175-200	LOH,mutasyon
RB 1	180	13q14.2	106/105	Mutasyon
E-Cadherin	100	16q22.1	97.5-120	Mutasyon
Kromozomlardaki heterozigosite kaybı		1p,5q,7q,12q,13q, 17p,18q,Y		

2.8.1. Onkogenez Aktivasyonu ve Kanserle İlişkisi

Onkogenler, hücre çoğalmasını yöneten protoonkogenlerin fizyolojik gereksinimlerinin ötesinde, proliferasyona yol açacak şekilde mutasyona uğramaları ile aktive olurlar. Hücre bu genetik değişimle, daha önce sahip olmadığı bir fonksiyon kazanmış olur. Onkogenler, normal hücrelerin malign transformasyonuna neden olurlar ve her zaman malignensi ile ilişkilidir. Hücresel veya retroviral kaynaklı olabilirler ve

genel olarak, kanserde birden fazla onkogen anormal olarak aktif durumdadır. Retroviral onkogenler (v-onc) hayvan tümörlerinden elde edilmiş, hızlı transforme edici retrovirüslerde ilk olarak keşfedilmişlerdir ve bu şekilde yaklaşık 20 çeşit onkogen tanımlanmıştır. Hücresel onkogenler (c-onc), kanser hücrelerinden DNA elde edildikten sonra, bu DNA'ların normal hücrelere sokulması ve böylece hücrelerin malignleşmesi yoluyla keşfedilmiştir ve yine bu yolla 20'den fazla onkogen tanımlanmıştır. İnhibitör genler, hücre proliferasyonunu inhibe eden proteinleri üretirler. Bu genlerdeki anormallikler, anormal hücre proliferasyonuna yol açar. Protoonkogenlerin bilinen tüm onkogenlerin kaynağı olduğu düşünülmektedir. Protoonkogenler, retroviral transdüksiyon ile (v-onc) veya insitu davranışları değiştiren ve onları hücresel onkogenlere çeviren (c-onc) etkilerle onkogenik hale gelebilir (25,40).

Onkogen aktivasyonları nokta mutasyonları, kromozom translokasyonu ve gen amplifikasyon sonucu gerçekleşebilir. Nokta mutasyonuna ras onkoproteinleri, kromozom translokasyonuna (8;14) translokasyonu sonucu c-myc aktivasyonu, gen amplifikasyonuna meme kanserindeki ErbB-2 örnek verilebilir (25).

Onkogenler, hücre çoğalmasını uyaran büyüme faktörlerinin hücre membranı üzerindeki resöptörlere bağlanmasından, nukleus içinde hücre bölünmesi ile ilgili genetik materyalin transkripsiyonuna kadar tüm aşamaları etkileyen proteinleri kodlar (25).

Amplifikasyon, bir genin çok sayıda kopyasının yapılmasıdır. Bu durum büyümenin bazı fazlarında da oluşur, fakat bir genin transkripsiyon kontrolünü kaybettiği hallerde de oluşabilir. Protoonkogen ürünlerinin aşırı ekspresyonu nedeniyle aktive olmaları, DNA dizilerinin reduplikasyonu ve amplifikasyonu sonucu olabilir. Bu tip bir amplifikasyon, tümör hücrelerinde protoonkogen oluşumuna neden olur. Nöroblastomdaki N-myc geni ve meme kanserindeki ErbB-2 gen amplifikasyonuna örnek olarak verilebilir. Bu genlerin amplifikasyonu tümörlerdeki kötü prognozla ilişkilidir. Küçük hücreli akciğer karsinomunda, L-myc ve N-myc amplifikasyonu karsinomun progresyonu ile ilişkilidir (25,39).

2.8.2. Büyüme Faktörleri ve Büyüme Faktör Reseptörleri

Büyüme faktörleri hücre çoğalmasını ve diferansiyasyonunu uyaran polipeptid yapısıdaki moleküllerdir. Hücre yüzeyinde yer alan spesifik resöpterleri uyararak etki

gösterirler. Kanser gelişiminde bir çok büyüme faktörü ve reseptörlerdeki regülasyon bozukluğu, kanserli hücrelerin kontrolsüz çoğalmalarında önemli rol oynamaktadır. Büyüme faktörlerinin üretimi, hücre yüzeylerindeki reseptör ekspresyonu ve neden oldukları hücre içi mitojenik uyarı yollarındaki düzensizlikler, tümör progresyonunda etkin patogenetik mekanizmaları oluşturur. Yapılan araştırmalar sonucunda, birçok onkogenin mutasyona uğramış büyüme faktörleri veya bunların hücre dışından uyarılmaya gerek duymaksızın, sürekli aktif kalan reseptörlerden kaynaklandığını ortaya çıkarmıştır (25,39).

Büyüme faktörlerinin resöpterleri, faktöre özel iyon kanalları, GTPaz ilişkili reseptörler, protein kinaz ilişkili reseptörler olmak üzere üç ana grupta toplanır. Büyüme faktörlerinin büyük çoğunluğu, protein kinaz ilişkili reseptörleri uyararak etki gösterir. Bu reseptörler ligand bağlayan hücre dışı bölüm, transmembran segment ve hücre içinde tirozin kinaz aktivitesine sahip bölüm olmak üzere üç yapıdan oluşur. Reseptör uyarıldığında, hücre içi bölümündeki tirozin molekülleri otofosforilasyona uğrar. Bu fosforillenmiş tirozin kalıntılarının ana görevi, enzimin katalitik parçalarına hücre içi substratların bağlanmasını kontrol etmektir. Böylece moleküler sinyalizasyonda rol oynayan birleşiklerin bu segmentlere bağlanmasını düzenler (25,39).

Büyüme faktörleri, vücuttaki tüm hücreler tarafından salınabilir. Çevre hücrelerdeki reseptörlerin uyarılması, parakrin etki olarak adlandırılır. Büyüme faktörünün üretilip salındığı hücrelerin yüzeyindeki reseptörlerin, aynı hücre tarafından salgılanan faktörlerce uyarılması ise otokrin etki olarak nitelenir. Normal olarak dışarıdan gelmesi gereken uyaranın, hücrenin kendisi tarafından üretilmesi kanser hücrelerinin, dokuların düzen ve bütünlüğünü değiştiren önemli bir mekanizmadır (25,39).

Büyüme faktörleri, durağan hücrelerin hücre siklusuna girmelerinin yanı sıra, bazı hücrelerin yaşamlarını sürdürmesini de destekler. Bunun bir yolu fosfoinozitol 3-kinaz (PI3K) enzimini aktive ederek, bu hücrelerin apopitozis yolu ile ortadan kalkmasını engelleyip, büyümeyi sürdürmesini sağlamak şeklindedir (25).

2.8.3 Kanser Gelişiminde Rol Alan Büyüme Faktörleri

1) PDGF: PDGF ailesi büyüme faktörleri mezankim kökenli hücreler için önemli mitojenik etkiye sahip moleküllerdir. PDGF reseptörleri, özellikle bağ dokusu,

düz kas hücreleri ve vasküler endotelyal hücrelerin yüzeyinde yer alır. PDGF-β zincirini kodlayan protoonkogen SIS, özellikle low grade astrositom ve osteosarkomlar olmak üzere çoğu tümörlerde fazla üretilmiştir (25,39).

2) IGF: Bu grupta IGF-1, IGF-2 ve İnsülin olmak üzere, üç tane peptid yapıda hormon yer alır. Tek başlarına mitojenik etki göstermeselerde, progresyon faktörü olarak rol oynarlar. Meme kanserinde, insülin reseptörlerinin sayısındaki artmanın progresyonda rolü olabileceği düşünülmektedir (25,39).

3**) Fibroblast Growth Factor (FGF):** FGF ailesi, polipeptid yapıda önemli büyüme ve diferansiyasyon etkili moleküller içerir. Her ne kadar ilk olarak mezodermal hücreler üzerindeki etkileriyle tanınmış olsalarda, epitelyal tümörlerin gelişiminde de rol oynarlar (25,39).

4) TGF-β: TGF-β reseptör kompleksi birçok tümörde inaktive olduğu gösterilmiş önemli bir büyüme faktörüdür. Karakteristik mutasyonlar kolon ve mide kanserinde gösterilmiştir (25,39).

5**) EGF:** Epidermal büyüme faktörü resöptörünü bir grup benzer yapıda ligand uyarır. TGF α ve EGF bu grup içinde en yaygın tanımlanmış büyüme faktörleridir. EGF reseptörü (ErbB-1), yapısal olarak benzerlikler taşıyan 4 üyeli ErbB reseptör ailesinin ilk tanımlanmış üyesidir. Bu ailedeki diğer reseptörler, ErbB-2(c-erbB2, HER2/Neu), ErbB-3 (c-erbB3, HER3), ErbB-4 (c-erbB4, HER4)'dür. Bu reseptörler ligand ve substrat özgüllüğü nedeniyle farklılıklar göstermesine rağmen uyarıldıklarında homodimerler veya heterodimerler oluşturarak birlikte etkileşim gösterirler. Bu reseptörlerin onkojenik versiyonları, büyüme faktörüne (TGFα veya EGF) bağlanmaksızın oluşturduğu, dimerizasyon ve aktivasyon ile ilişkilendirilmiştir. ErbB reseptör ailesinin spesifik ligandı bilinmeyen tek üyesi ErbB-2 dir (22,41).

ErbB-1, birçok epitelyal hücrenin yüzeyinde artmış sayıda bulunur. Aynı hücrelerde TGF-α üretimi de artmıştır. Örnek olarak, EGF reseptörleri normal bağırsak epitelinde fizyolojik olarak eksprese edilir. TGF-α kolon epitel hücreleri için fizyolojik büyüme stimülanı olarak etki yapar (39).

2.8.4. EGFR Ailesi ve ErbB-2

EGFR ailesi ErbB-1 (EGFR), ErbB-2, ErbB-3, ErbB-4 olmak üzere dört reseptörden oluşur. Tüm bu transmembran reseptörler intrinsik tirozin kinaz aktivitelerine sahiptir. EGFR'nün tirozin kinaz aktivitesi EGF ailesindeki büyüme faktörlerinin reseptöre bağlanması ile stimüle olur. EGF dışında birçok ligand da EGFR ailesi ile etkileşim halindedir. TGF-α spesifik olarak aile üyelerinden sadece ErbB-1 ile etkileşime girer (48).

EGFR ailesinin hepsinde üç yapısal bölümden oluşan ortak bir yapı vardır. Bunlar; ekstrasellüler, transmembran ve sitoplazmik bölümlerdir. Her bir bölümün farklı görevi vardır. Ekstrasellüler bölüm sisteinden zengin yapı içerir ve bu yapıya pek çok farklı EGF bağımlı büyüme faktörlerini bağlar. Santral lipofilik kısım ise reseptörün hücre mebranına sıkıca bağlanmasını sağlar. Reseptörün hücre içi kısmında ise tirozin kinaz aktivasyonuna sahip sitoplazmik uzantısı bulunmaktadır (48,49).

EGFR proteinleri, plazma membranında monomerler şeklinde bulunur. EGFR aktivasyonu genellikle ligandlar ve EGFR ailesinin diğer reseptörleri olarak adlandırılmış küçük moleküllerin varlığına bağlıdır (48).

EGFR sinyal iletiminin oluşması pek çok aşamada gerçekleşir. Ligandın hücre dışı kısmına bağlanması reseptörün dimerizasyonunu indüklemektedir. Dimerizasyon aynı (homodimerizasyon) veya farklı (heterodimerizasyon) EGFR ailesi üyeleri arasında olur ve her bir reseptörde bulunan hücre içi tirozin kısımları aktive olarak diğer ErbB molekülündeki kinaz rezidülerini çapraz fosforile eder. Bu fosforilasyon, adaptör proteinler ve diğer tirozin kinaz substratları için bağlanma bölgesi oluştururlar. Bu şekilde sinyal ileti yolu sitoplazmada gerçekleşir. EGFR ailesi, insan fetüsünde sinir sistemi, kemik, kas, akciğer ve intestinal epitelyumda saptanmıştır ve embriogenezde önemli rol oynamaktadır (48).

EGFR ailesi üyelerinden olan ErbB-3 ve ErbB-4'ün hücre dışı ligand bağlanma bölgesine HB-EGF, betaselülin, nörogulin 1-4 gibi farklı ligandların bağlanabildiği tesbit edilmiştir. ErbB-3 de diğer reseptörlerin aksine intrinsik tirozin kinaz aktivitesi bulunmamaktadır. Bunun yerine ErbB-3 de hücre içi altı adet PI3K bağlanma bölgesi

bulunmaktadır. PI3K ve MAPK yolları EGFR reseptörleri ile aktive olan sinyal kaskatının önemli kısmını oluşturur (48,49).

EGFR ailesindeki diğer reseptörlerin aksine, ErbB-2'nin ligandı bilinmemektedir. Bu yüzden ErbB-2'nin bir reseptör alt birimi gibi davrandığı ve ligand bağlanmaksızın aktivitesini değiştirebildiği kabul edilmektedir. Değişik ligandlar ve değişik hücre içi sinyal yolları ile etkileşimi birbirinden çok farklı sinyallerin iletimini mümkün kılar. ErbB-2 aktivasyonuna bağlı olarak PLC/PI-3 kinaz, ras/MAP kinaz, JAK/STAT, src ve strese bağlı aktifleşen kinaz gibi birçok değişik sinyal yolunun uyarıldığı, ErbB-2'nin aynı zamanda GAP ve shc gibi sinyal molekülleri ile etkileştiği gösterilmiştir. ErbB-2 ile ras sinyal yolu arasındaki etkileşimin, tümör hücrelerinin çoğalma hızını değiştirdiği bildirilmiştir. Bu gözlemler tümör patogenezinde, farklı onkogenlerin işbirliğinin önemini göstermektedir (48,49).

ErbB-2, kromozom 17q21'de haritalanmış, 185 kDa molekül ağırlıklı 1255 aminoasitli bir transmembran glikoproteinini kodlayan bir protoonkogendir. Bu protoonkogen, tirozin kinaz aktivitesi gösteren bir protein kodlar (49).

ErbB-2 molekülü üzerinde hem düşük, hemde yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri yer alır. Molekülün onkogenetik potansiyeli de, bu sayede değişik ligandlara bağlanabilmesinden kaynaklanır. Çalışmalar, ErbB-2'nin, bu ailedeki tüm ligandlar için afinitesi düşük, ama spesifitesi yüksek bir reseptör olarak davrandığını göstermiştir (48,49).

Karsinogenezde, ErbB-2 içeren heterodimerlere bivalent bağlanma ve ligand bağlanmasının uzaması sonucu, sinyal iletiminin uzaması rol oynar. Bir diğer neden, ErbB-2'nin lizozomal sindirimi sırasında, siklusa yeniden girmesidir. ErbB-2 overekspresyonunda sinyal, heterodimerler tarafından iletilir. Açıklanan bu nedenlerle, bu potent sinyal artışı hücre çoğalması ve malign dönüşümle sonuçlanır ve onkogenezisin patogenezinde rol oynamaktadır. Plazma membranında ErbB-2'nin siklusa yeniden girmesi, lizozomda ErbB-2'nin destrüksiyonuna yol açan insan monoklonal antikoru, trastuzumab (Herceptin) ile bloke olup, bu monoklonal antikor ErbB-2 overeksprese eden tümörlere karşı inhibitör aktivite sergiler (48,49).

EGFR'ün aşırı ekspresyonu, farklı transkriptlerin ortaya çıkmasına neden olan genin yeniden düzenlemeleri (rearengement), gen amplifikasyonları veya transkripsiyon hızında doğrudan artış gibi, değişik şekillerde gerçekleşebilir. Gözlemler ErbB-2 aktivasyonunun erken bir olay olduğunu ve invaziv kanserlerin gerçekleşmesi için daha başka genlerde yeni mutasyonların ortaya çıkması gerektiğini göstermektedir (48,49).

2.8.5. Kanser Hücrelerinde ErbB-2 Ekspresyonu

Meme kanserlerinin yaklaşık üçte birinde ve bazı değişik kanser türlerinde ErbB-2 geninde amplifikasyon veya ekspresyon artışı görülür. Çalışmalar, kanserleşmenin ilk aşamasında EGF'nün aşırı eksprese olduğunu ve eşzamanlı olarak ortaya çıkan ErbB-2 overekspresyonu ile arasında bağlantı olduğunu göstermektedir. İki molekülün aşırı ekspresyonu daha kötü prognoz ile ilişkilidir.

ErbB-2'nin prognostik ve terapotik değeri, primer olarak meme kanserli hastalarda araştırılmıştır. ErbB-2 overekspresyonu ve yüksek p185 ekspresyonu olan hastalar, lenf nodu metastazı, yüksek proliferasyon oranı ve düşük sağkalımla ilişkili bulunmuştur (50,51).

ErbB-2 overekspresyonunun malign hücrelere, p185 ligandı yoluyla potansiyel olarak etki ettiği tanımlanmış olmakla beraber, malign progresyonda ErbB-2'nin etkisi net olarak anlaşılamamıştır. Buna rağmen yapılan iki çalışmada, P185 bağımlı reseptör upregülasyonun, meme kanseri hücrelerinde invazyon ve metastazla ilişkili olduğu bulunmuştur (52,53).

Meme kanserinde ErB-2 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Meme kanserli hastalarda, ErbB-2 ekspresyonu ile lenf nodu metastazı ve prognoz arasında ilişki tespit edilmiştir (44). Yine meme kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, hormon reseptörü negatif, lenf nodu pozitif, yüksek proliferasyon oranı gösterenlerde ve yüksek gradeli hastalarda daha yüksek oranlarda ErbB-2 ekspresyonu bulunmuştur (49).

Meme kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, ErbB-2 overekspresyonu pozitif olan tümörlerde, ErbB-2 overekspresyonu negatif olan tümörlere göre, yüksek derecede proliferasyon, invazyon ve lenf nodu metastazı görüldüğü belirtilmiştir (54). Yine

meme kanseri hastalarında yapılan başka bir çalışmada, ErbB-2 ekspresyonu gösteren hastalarda, yüksek proliferasyon oranı, lenf nodu tutulumu, yüksek grade ve tümör invazyonu tespit edilmiştir (55).

Meme kanserinde anti HER2/Neu antikoru ile iyi klinik sonuçlar alınması, diğer solid tümörlerde HER2/Neu ekspresyonlarının araştırılmasına yol açmıştır. Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada meme, kolon, mesane, over, endometrium, akciğer, uterin serviks, baş-boyun ve gastrointestinal sistem tümörlerinde farklı oranlarda ErbB-2 overekspresyonu tespit edilmiştir (56-65).

Akciğer adenokarsinomlu hastalarda yapılan bir çalışmada, ErbB-2 ekspresyonu pozitif olan hastaların kısa sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur (49). Prostat ve mesane kanserleri ile yapılan çalışmalarda, ErbB-2 ekspresyonunun kısa sağkalımla ilişkisi bulunmuştur (60,66).

Bazı çalışmalarda, ErbB-2 overekspresyonunun iyi diferansiye adenokarsinomlarda, az diferansiye adenokarsinomlara göre daha sık olarak gözlendiği gösterilmiştir (67,68). Mide kanserlerinde yapılan bir çalışmada, ErbB-2 overekspresyonu pozitifliğinin, iyi diferansiye tümörlerde daha fazla olduğu gösterilmiştir (69).

Lam ve ark. (70), 100 özefagus squamöz hücreli karsinomlu hastayı retrospektif olarak incelemiş, ErbB-2 overekspresyonu 10 (%10) hastada pozitif bulunmuştur. ErbB-2 overekspresyonu olan tümörlerin, yüzeyel iyi diferansiye tümörler olduğu görülmüş ve ErbB-2 overekspresyonunun tümörün biyolojik davranışı ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca ErbB-2 overekspresyonunun erken evre tümörlerin belirlenmesinde önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür.

Özefagus squamöz hücreli karsinomlarla yapılan bir çalışmada, retrospektif olarak, ErbB-2 amplifikasyonu ve hst-1 ve int-2 coamplifikasyon oranları incelenmiş olup, sağkalım oranları, ErbB-2 amplifikasyonu ve hst1/int2 coamplifikasyonu olan hastalarda, her ikisinin de negatif olduğu hastalara göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda, onkogenlerin amplifikasyon ve coamplifikasyonu, özefagus squamoz hücreli karsinomda yeni bir biyolojik indikatör olarak hastaların

prognozunu belirlemede kullanılabileceği ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada, ErbB-2 ve int-2'nin amplifikasyon oranları ve tümör progresyonu ve metastazla olan ilişkileri incelenmiş, ErbB-2 amplifikasyonu olan hastaların hepsinde int-2 amplifikasyonu da tespit edilmiştir. Bu çalışmada int-2 ve ErbB-2 amplifikasyonunun, özefagus squamöz hücreli kanserlerde, prognozun belirlenmesinde kullanılabileceği ileri sürülmüştür (71).

Mide kanserli hastalarda yapılan çalışmaların sonucu çeşitlilik göstermektedir. Bazı çalışmalarda, ErbB-2 overekspresyonunun, tümör invazyon derinliğinin, lenf nodu metastazı, lenfatik veya venöz invazyon varlığı ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (68,72-74). Yine yapılan başka çalışmalarda, buna zıt olarak, mide kanserli hastalarda, ErbB-2 overekspresyonu ile serozal invazyon, lenf nodu metastazı ve tümör evresi arasında ilişki saptanmıştır (44,75).

Mide kanserli hastalarda, lenf nodu tutulumu önemli bir prognostik parametre olup, prognozu kötü yönde etkilemektedir. Mide kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, ErbB-2 overekspresyonu olanlarda, lenf nodu metastazı oranı yüksek olarak bulunmuş ve ErbB-2 overekspresyonunun, bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilebileceği ileri sürülmüştür (44).

Başka bir çalışmada ise mide kanserli hastalarda, cisplatin sensitivitesi ve ErbB-2 ekspresyonu arasında ilişki çalışılmış ve ErbB-2 overekspresyonu olan hastalarda cisplatin sensitivitesinin arttığı ileri sürülmüştür (76).

Bir başka çalışmada, tümör cerrahisi yapılacak hastaların serum ve idrar ErbB-2 seviyeleri, operasyondan önceki ve operasyondan 7 gün sonraki değerleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, serum ErbB-2 seviyelerinin yüksek olmasının, sağkalım sürecini kısalttığı görülmüş, buna dayanılarak, serum ErbB-2 düzeylerinin bağımsız bir prognostik faktör olabileceği ileri sürülmüştür. Üriner ErbB-2 seviyelerinin sağkalımla ilişkisi bulunamamıştır (77).

2.8.6 ErbB-2 Ekspresyonunun Ölçüm Metodları

Çeşitli laboratuar teknikleriyle ErbB-2 overekspresyonu gösterilebilir. ErbB-2 proteinin artmış ekspresyonu immunhistokimyasal (IHC) ve enzim immuno ölçüm yöntemlerinden ELİSA ile gösterilebilir. ErbB-2 onkogeninin amplifikasyonu ise

fluorescence in situ hybridization (FISH), Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ve southern blot teknikleri ile ölçülmektedir. Bu tekniklerde tümör hücresinden elde edilmiş DNA, mRNA veya reseptör proteinlerinden oluşan çeşitli hedef moleküller ErbB-2 amplifikasyonunu ve artmış protein ekspresyonunu göstermekte kullanılır (78,79).

Monoklonal ve poliklonal antikorlar kullanılarak dokulardaki ve hücrelerdeki spesifik proteinleri ortaya çıkarma prensibine dayanan IHC, şu ana kadar en sık kullanılan yöntemdir. Diğer yöntemlere göre daha kolay olmakla beraber subjektiftir. Bu nedenle RT-PCR gibi moleküler biyoloji teknikleri ön plana geçmeye başlamıştır (80).

PCR; spesifik bir DNA parçasının milyonlarca kopyasının primerler tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro bir yöntemdir (81). RT-PCR nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı artış gösteren floresans sinyalin ölçülmesiyle kısa sürede sonuç veren PCR yöntemidir. Hedef nükleik asitteki mutasyonlar floresans veren proplar kullanılarak tespit edilebilir (82).

RT-PCR'ın konvansiyel PCR'a göre üstünlükleri vardır. RT-PCR, testin özgüllük ve duyarlılığını arttırır ve kısa sürede kantitatif sonuç verir. Bu teknikte elektroforeze gerek kalmadan amplifikasyon esnasında sonuç alınabilir. Kullanılan boyalar PCR amplifikasyonu için inhibitör etki yapmaz. Ayrıca RT-PCR da kullanılan ‘‘cyber green’’ boyası PCR da kullanılan ‘‘etidyum bromür’’ gibi mutajen değildir. RT-PCR da değerlendirme tüpler açılmadan yapıldığından kontaminasyon riski düşüktür (83).

3. MATERYAL ve METOD

3.1 HASTALAR ve ÖRNEKLER

Bu çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.B.D ve Genel Cerrahi A.B.D' da mide kanseri tanısı konulmuş 32 hasta alındı. Hastaların hepsi yeni tanı almıştı ve henüz cerrahi veya medikal tedavi uygulanmamıştı. Mide kanseri tanısı konulan hastalardan 2 cc EDTA'lı tüpe kan alındı ve bekletilmeden DNA izolasyonu yapıldı. Aynı hastaların endoskopik ve cerrahi rezeksiyon sonrası elde edilen parafinize edilmiş tümörlü dokularından 5 µm kalınlığında kesitler alınarak deparafinize edildi. Deparafinizasyon sonrasında DNA izolasyonu yapıldı.

3.2. ANALİTİK METODLAR

3.2.1. Parafine Gömülü Dokudan DNA İzolasyonu

Parafin bloklardan alınan örnekler DNA izolasyonu kiti (Dr. Zeydanlı DZDNA Parafine Gömülü Dokudan DNA İzolasyon Kiti) kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapıldı. Parafine gömülü dokudan DNA izolasyonu yapılabilmesi için, dokular ilk aşamada deparafinize edildi. Deparafinizasyon;

1. Parafine gömülü doku bloklarından 5 µm kalınlığında kesitler alınarak 1,5 ml. eppendorf tüpüne aktarıldı. Üzerine 1 ml. Ksilen eklenerek, tüp alt üst edildi ve parafinin erimesi için 10 dakika oda ısısında bekletildi.
2. Tüp 5.000 rpm de 3 dakika santrifüj edilerek dokunun çökmesi sağlandı. Tüp üzerinde oluşan supernatant atıldı. Pelet üzerine tekrar 500 µl Ksilen eklendi ve tüp alt üst edilerek yine santrifüj yapıldı, parafinin iyice temizlenmesi sağlandı. Süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırıldı.
3. Pelet üzerine Ksilen'i uzaklaştırmak için 1 ml % 99'luk Alkol konuldu ve alt üst edilerek karıştırıldı, 5.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek doku çöktürüldü. Süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırıldı.
4. Kalan pelet üzerine 750 µl. %75'lik Alkol eklendi ve 5.000 rpm de 1 dk. santrifüj edildi. Süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırıldı.
5. Kalan pelet üzerine 750 µl. distile su eklendi ve 5.000 rpm de 1 dk. santrifüj edildi. Süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırıldı.

Bu işlemlerle doku parafinden arındırılmış oldu. Deparafinize edilen dokudan DNA ekstraksiyonu için;

1. 1,5 ml eppendorf tüpüne 500 µl Sol B, 25 µl Sol A ve doku örneği koyuldu. Vortekslendikten sonra 42 °C'de 1 saat inkübe edildi.
2. İnkübe edilen karışımın üzerine 500 µl Solusyon C eklenerek 10.000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi.
3. Santrifüj sonrası iki farklı görünüm oluştu. Üstteki berrak faz alınarak (~500 µl) ayrı bir eppendorf tüpüne konuldu. Kalan kısım atıldı.
4. Ayrılan kısıma 500 µl Solusyon D eklenerek tüp alt üst edildi. Karanlık bir ortamda oda ısısında 1 saat bekletildikten sonra karışım 10.000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi ve oluşan süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırıldı.
5. Kalan pelet üzerine 500 µl Solusyon E eklenerek 10.000 rpm de 5 dakika. santrifüj edildi ve oluşan süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırıldı.
6. Tüpler 37 °C etüv de kurutuldu. Kuruduktan sonra 50 µl distile su ile sulandırıldı.

3.2.2. Periferik Venöz Kandan DNA İzolasyonu

Periferik venöz kandan DNA izolasyonu Sigma Chemicals (Pvt) Ltd. firmasının Spin Kolon Yöntemi ile;.

1. 1,5ml'lik eppendorf tüpüne 20 µl Proteinase K konuldu. Bunun üzerine 200 µl kan eklendi ve vortekslendi.
2. Bunun üzerine 200 µl Lysis Solution C eklendi. 15 saniye vortekslenerek 55 ^{o}C'de 10 dakika bekletildi.
3. Kolonun üzerine 500 µl Column Preparation Solution eklendi. 13.000 rpm de 1dakika santrifüj edildi.
4. Karışımın üzerine 200 µl %100 Etanol eklendi. 5-10 saniye. vortekslendi. Bu karışım kolona aktarılıp 11.000 rpm de 1dakika santrifüj edildi. Alttaki tüp, içeriği ile birlikte atılıp kolon 2 ml'lik yeni bir eppendorf tüpe yerleştirildi.
5. I. yıkama: Kolona 500 µl Wash Solution eklenip 11.000 rpm de 1dakika santrifüj edildi. Alttaki tüp içeriği ile birlikte atılıp kolon 2 ml.'lik yeni bir tüpe yerleştirildi.
6. II. yıkama: Kolona 500 µl Wash Solutionu eklenip 11.000 rpm de 3 dakika santrifüj edildi. Kolon da Etanol kaldığı durumlarda tekrar 11.000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi.

7. Alttaki tüp, içeriği ile birlikte atılıp kolon 2ml'lik yeni bir eppendorf tüpe yerleştirildi.
8. Kolonun tam ortasına 200 µl Elution Solution eklendi. Oda ısısında 5 dakika inkübe edildi ve 11.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
9. Kolon atıldı. Tüpün dibindeki DNA alınarak -20 ^{o}C'de saklandı.

3.2.3 Light Cyler RT-PCR ile ErbB-2 Onkogeninin Kantitasyonu

Tümör dokularından ve periferik kandan elde edilen DNA'lardan ErbB-2 onkogeninin kantitatif olarak ölçümü Roche Diagnostik sistemlerine ait RT-PCR cihazı olan Light Cyler 2.0 (LC) ile yapıldı. ErbB-2 onkogeninin kantitatif olarak ölçümü için LC HER2/neu DNA Quantification Kit'i kullanıldı.

Kit içindeki reaktifler; HER2/Neu detection mix (HER2/Neu genine spesifik primer ve hibridizasyon prop mix), HER2/Neu reference gen (referans gene spesifik primer ve hibridizasyon prop mix), HER2/Neu enzyme solution ve HER2/Neu reaction mix (Taq DNA polimeraz, reaksiyon buffer, dNTP), HER2/Neu calibrator DNA (PCR döngüsü için kalibratör ve pozitif kontrol), PCR grade su'dan oluşmaktaydı.

Reaktiflerin hazırlanmasında HER2/Neu reaksiyon karışımından 60 µL pipetlenerek HER2/Neu enzim solusyonuna eklendi ve karıştırıldı. Bu karışım HER2/Neu Enzyme Master Mix olarak adlandırıldı.

3.2.4. LC RT-PCR Reaksiyon Karışımının Hazırlanması

20 µL'lik bir reaksiyon karışımı hazırlanarak LC'de kapiller tüplere konuldu. Bu karışım 2.6 µL PCR grade su, 2.4 µL Mg^{2+} (25µM), 4 µL HER2/Neu detection mix, 4 µL HER2/Neu referance gene detection mix, 2 µL HER2/Neu Enzyme Master Mix'den hazırlandı. 15 µL olan bu PCR karışımına, 5 µL DNA veya pozitif veya negatif kontrol eklenerek 20 µL'lik reaksiyon karışımı oluşturuldu. Oluşturulan PCR karışımı 3000 rpm'de 5 saniye santrifüj edildikten sonra LC cihazındaki uygun PCR programına yerleştirildi.

3.2.5. LC RT-PCR Programı

LC RT-PCR programı üç aşamada gerçekleşti (Tablo 5). Birinci aşama preinkübasyon ve DNA'nın denatürasyonu, İkinci aşama hedef veya referans genin amplifikasyonu ve üçüncü aşama rotor ve termal çemberin soğutulmasıdır.

Tablo 5: LC RT-PCR Programı Aşamaları

1.Aşama: DENATURASYON			
Siklus Proğramı	Değer		
Siklus	1		
Analiz Modu	None		
Sıcaklık (^{o}C)	95		
İnkübasyon Süresi(dk)	10		
Sıcaklık Geçiş Oranı (^{o}C/s)	20		
Acquisition mode	None		
2. Aşama: AMPLİFİKASYON			
Siklus Proğramı	Değer		
Siklus	45		
Analiz Modu	Quantification		
Sıcaklık (^{o}C)	Segment 1	Segment 2	Segment 3
	95	60	72
İnkübasyon Süresi(dk)	10	10	10
Sıcaklık Geçiş Oranı (^{o}C/s)	20	20	20
Acquisition mode	None	Single	None
3. Aşama: SOĞUTMA			
Siklus Proğramı	Değer		
Siklus	1		
Analiz Modu	None		
Sıcaklık (^{o}C)	40		
İnkübasyon Süresi(dk)	30		
Sıcaklık Geçiş Oranı (^{o}C/s)	20		
Acquisition mode	None		

3.2.6. LC RT-PCR ‘‘Quantification Software’’ ile Sonuçların Değerlendirilmesi

LC RT-PCR proğramında çalışılan örneklere ait sonuçlar ‘‘Quantification Software’’ ye aktarıldı. Her bir örnek için hedeflenen HER2/Neu gen kopya sayısının, referans gen kopya sayısına oranı hesaplandı. Buna göre, bu oran <2 ise HER2/Neu onkogen amplifikasyonu negatif olarak değerlendirilirken, oranın ≥2 olması durumunda HER2/Neu onkogen amplifikasyonu pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.7 İstatistiksel Analiz

Veriler sayı, yüzde, ortalama ve standart sapma olarak verildi. Verilerin analizi bilgisayar programı yardımıyla yapıldı. Kategorik değişkenlerin analizi Ki-kare testi ile analiz edildi. $P < 0.05$ olması durumunda fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Özellikleri

Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD Onkoloji BD ve Genel Cerrahi ABD'ında mide kanseri tanısı konulan 32 hasta alındı. Hastaların hepsi yeni tanı almıştı ve henüz tedaviye yönelik cerrahi veya medikal tedavi uygulanmamıştı.

Tablo 8'de histopatolojik ve klinik özellikleri verilen hastaların, yaş ortalamaları 58,4±12,38 (32-84) olarak tespit edildi. Hastaların 17'si (%53,1) erkek, 15'i (%46,9) kadındı. Histopatolojik olarak vakaların 32'si (%100) adenokarsinomdu.

Vakalarda tümörlerin 13'ü (%40,6) kardia, 11'i (%34,3) antrum, 2'si (%6,2) korpus ve kardia, 1'i (%3,1) korpus ve antrum yerleşimliydi.

Vakaların diferansiyasyon derecelerine göre sınıflandırılmasında; 21'i (%65,7) az diferansiye, 9'u (%28,1) orta diferansiye, 2'si (%6,2) iyi diferansiye olarak tespit edildi.

Tümör invazyon derinliğine göre hastaların; 2'si (%6,2) T1 (tümör lamina propria veya submukozada sınırlı), 1'i (%3,1) T2 (tümör muskularis propria veya submukozada sınırlı), 19'u (%59,4) T3 (tümör komşu dokulara invazyon göstermeden serozayı geçmiş), 10'nu (%31,3) T4 (tümör komşu dokulara invaze) evresindeydi.

Lenf nodu metastazına göre hastaların; 8'i (%25) N0 (lenf nodu metastazı yok), 5'i (%15,6) N1 (metastazlı bölgesel lenf nodu sayısı 1-6 arasıda), 10'u (31,3) N2 (metastazlı bölgesel lenf nodu sayısı 7-15 arasında), 9'u (%28,1) N3 (metastazlı bölgesel lenf nodu sayısı 15'den fazla) olarak saptandı.

TNM evrelemesine göre hastaların; 2'si (%6,2) evre 1A, 1'i (%3,1) evre 1B, 4'ü (%12,5) evre 2, 5'i (%15,7) evre 3A, 6'sı (%18,7) evre 3B, 14'ü (%43,8) evre 4 olarak tespit edildi.

Lauren sınıflamasına göre vakaların; 6'sı (%18,8) diffüz tip, 24'ü (%75) intestinal tip, 2'si (%6,2) mikst tipti. WHO sınıflamasına göre histopatolojik tip olarak, 24 (%75) vaka tübüler, 8 (%25) vaka musinöz tip olarak değerlendirildi.

Çalışmaya alınan hastaların 11'inde (%34,3) uzak metastaz (karaciğer, sürrenal, periton, over, pankreas) saptandı.

4.2. RT-PCR ile Ölçülen ErbB-2 Onkogeninin Kantitatif Sonuçları ve Dağılımları

RT-PCR ile kantitatif olarak ölçülen ErbB-2 onkogeninin referans gene oranı, periferik venöz kanda 0,74 ile 1,01 arasında, tümör dokusunda 0,21 ile 15,6 arasında değişmekteydi. Ortalama değer periferik kanda 0,67±0,37, tümör dokusunda 2,03±3,01 olarak hesaplandı. Periferik venöz kanda tüm hastalarda ErbB-2 amplifikasyonu negatifti. Tümör dokusunda vakaların 5'inde (%15,6) ErbB-2 amplifikasyonu pozitif, 27'sinde (%84,4) ise negatifti (Tablo 6).

Tablo 6: RT-PCR ile Ölçülen Erb-B2 Onkogeninin Kantitatif Sonuçları ve Dağılımları

		Min	**Max**	**Ort ± SD**
Erb-B2 Periferik Venöz Kan		0,74	1,01	0,67±0,37
Erb-B2 Tümör. Dokusu		0,21	15,6	2,03±3,01
		n	**%**	
Erb-B2 Periferik venöz Kan	Pozitif	0	0,0	
	Negatif	32	100,0	
	Toplam	32	100,0	
Erb-B2 Tümör Dokusu	Pozitif	5	15,6	
	Negatif	27	84,4	
Toplam		32	100,0	

4.3. Erb-B2 Onkogeninin Prognostik Faktörlerle İlişkisi

Tablo 7'de vakaların, patolojik özellikleri ile ErbB-2 amplifikasyonu arasındaki ilişki gösterilmektedir. Bu parametreler arasındaki ilişki (anlamlılık) Ki-kare testi kullanılarak değerlendirildi.

Vakaların, diferansiyasyon dereceleri (p=0,7), tümör invazyon derinliği (p=0,08), lenf nodu metastazı (p=0,6), Lauren sınıflaması (p=0,4), WHO sınıflaması (p=0,3), TNM

evrelemesi (p=0,3) ve tümörün lokalizasyonu (p=0,2) ile ErbB-2 pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Çalışmamızda istatistiksel bir ilişki görülmemesine rağmen (P>0,05), ErbB-2 pozitif olan vakaların hepsinde lenf nodu tutulumunun olması, tümör invazyon derinliğine göre T3 (1 vaka) ve T4 (4 vaka) olması, TNM evrelemesine göre ileri evrede (evre 3 ve 4) olması dikkat çeken bulgulardı.

Çalışmamızda istatistiksel bir ilişki görülmemesine rağmen (P>0,05), ErbB-2 pozitif olan 3 hastada tümör kardia, 1 hastada korpus ve kardia, 1 hastada ise korpus ve antrum yerleşimli olması dikkat çeken bir bulguydu.

Hastalardaki uzak metastaz ile ErbB-2 pozitifliği arasındaki ilişki ise istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,04). ErbB-2 pozitifliği olan 4 hastada uzak metastaz varken 1 hastada uzak metastaz görülmedi.

Tablo 7: Hastalardaki ErbB-2 Pozitifliği ile Patolojik Parametreler Arasındaki İlişki

Patolojik parametreler	Gruplar	n	%	ErbB-2 Pozitif Periferik Kan	ErbB-2 Pozitif Tümör Dokusu	p değeri
				n	n	
Diferansiyasyon derecesi	Az	21	65,7	0	**4**	0,7
	Orta	9	28,1	0	**1**	
	İyi	2	6,2	0	0	
Tümör invazyon derinliği	T1	2	6,2	0	0	0,08
	T2	1	3,1	0	0	
	T3	19	59,4	0	**1**	
	T4	10	31,3	0	**4**	
Lenf nodu metastazı	Yok	7	21,9	0	0	0,6
	Var	25	78,1	0	**5**	
Lauren sınıflaması.	Diffüz	6	18,8	0	0	0,4
	İntestinal	24	75	0	**5**	
	Mikst	2	6,2	0	0	
WHO Sınıflaması	Musinöz	8	25,0	0	0	0,3
	Tübüler	24	75,0	0	**5**	
Uzak Metastazı	Var	11	34,3	0	**4**	**0,04**
	Yok	21	65,7	0	**1**	
TNM Evrelemesi	Evre 1	3	9,4	0	0	0,3
	Evre 2	4	12,4	0	0	
	Evre 3	11	34,4	0	**1**	
	Evre 4	14	43,8	0	**4**	
Tümör Lokalizasyonu	Antrum	11	34,4	0	**0**	0,2
	Kardia	13	40,6	0	**3**	
	Korpus	8	25,0	0	**2**	

Tablo 8: Hastaların Histopatolojik-Klinik Özellikleri ve ErbB-2 Pozitifliği

Vaka	Lok.	Dif. Derecesi	Lauren sınıflama	WHO sınıflama	Tm. İnvazyonu	Lenf Nodu	Met.	Evre	Tm. Dokuda ErbB-2
1.Vaka	Kor.	Az	İntestinal	Müsinöz	Seroza	Var	Yok	4	Negatif
2.Vaka	Ant.	Az	İntestinal	Müsinöz	Seroza	Var	Yok	3B	Negatif
3.Vaka	Kor.+Kar	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	Yok	3B	Negatif
4.Vaka	Ant.	Az	Diffüz	Müsinöz	Seroza	Yok	Yok	2	Negatif
5.Vaka	Kar.	Orta	İntestinal	Müsinöz	Seroza	Var	Yok	4	Negatif
6.Vaka	Kar.	Orta	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	İB+K	3B	Negatif
7.Vaka	Ant.	Az	Diffüz	Tübüler	Seroza	Var	Yok	4	Negatif
8.Vaka	Ant.	İyi	Diffüz	Tübüler	Submukoza	Yok	Yok	1A	Negatif
9.Vaka	Ant.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	KC	3A	Negatif
10.Vaka	Kor.+Kar	Az	İntestinal	Müsinöz	Seroza	Var	P+O	4	**Pozitif**
11.Vaka	Ant.	Orta	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	Yok	4	Negatif
12.Vaka	Ant.	Orta	İntestinal	Tübüler	Submukoza	Yok	Yok	1A	Negatif
13.Vaka	Ant.	Orta	Mikst	Tübüler	Seroza	Var	KC	3A	Negatif
14.Vaka	Kor.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	Yok	4	Negatif
15.Vaka	Kar.	İyi	İntestinal	Tübüler	Müsküler	Yok	Yok	1B	Negatif
16.Vaka	Ant.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	Yok	4	Negatif
17.Vaka	Kar.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	Yok	2	Negatif
18.Vaka	Kor.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	Yok	3B	Negatif
19.Vaka	Kar.	Az	Diffüz	Tübüler	Seroza	Var	P	3B	Negatif
20.Vaka	Kar.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	S	4	**Pozitif**
21.Vaka	Kar.	Orta	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	P	4	Negatif
22.Vaka	Kar.	Az	Diffüz	Tübüler	Seroza	Var	Yok	4	Negatif
23.Vaka	Kar.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	KC+O	2	Negatif
24.Vaka	Kor.+Ant	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	KC	4	**Pozitif**
25.Vaka	Kor.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Yok	Yok	4	Negatif
26.Vaka	Kar.	Orta	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	Yok	3A	**Pozitif**
27.Vaka	Kor.	Az	İntestinal	Müsinöz	Seroza	Yok	Yok	3A	Negatif
28.Vaka	Kar.	Az	Mikst	Müsinöz	Seroza	Yok	Yok	2	Negatif
29.Vaka	Ant.	Orta	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	Yok	3A	Negatif
30.Vaka	Ant.	Orta	Diffüz	Müsinöz	Seroza	Var	Pan.	3B	Negatif
31.Vaka	Kar.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	P	4	**Pozitif**
32.Vaka	Kar.	Az	İntestinal	Tübüler	Seroza	Var	Yok	4	Negatif

Lok: Lokalizasyon **Kor**:Korpus **Kar**: Kardia **Ant**: Antrum **Dif**: Diferansiyon
Tm: Tümör **Met:** Metastaz **P:** Periton **Pan:** Pankreas **KC:** Karaciğer
S: Sürrenal **İB:** İncebarsak **K:** Kolon **O:** Over

5. TARTIŞMA

Bölgemizdeki mide kanserli hastalarda ErbB-2 overekspresyon oranının RT-PCR ile araştırıldığı bu çalışmada, ErbB-2 pozitifliği hastaların tümör dokularında %15,6 oranında bulundu. Hastalardaki uzak metastaz ile ErbB-2 pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,04). Vakaların, diferansiyasyon derecesi (p=0,7), tümör invazyon derinliği (p=0,08), lenf nodu metastazı (p=0,6), Lauren sınıflaması (p=0,4), WHO sınıflaması (p=0,3), TNM evrelemesi (p=0,3) ve tümörün lokalizasyonu (p=0,2) ile ErbB-2 pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi. İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen; ErbB-2 pozitif olan vakaların; hepsinde lenf nodu tutulumunun olması, tümör invazyon derinliğine göre T3 ve T4 olması ve lokalizasyon olarak kardiada daha fazla görülmesi dikkat çeken bulgulardı. ErbB-2 pozitif olan vakaların hepsi Lauren'a göre intestinal tip, WHO'ya göre tübüler tipte görüldü.

Meme kanserinde anti HER2/Neu antikoru ile iyi klinik sonuçlar alınması, diğer solid tümörlerde HER2/Neu ekspresyonunun araştırılmasına yol açmıştır. Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada meme, kolon, mesane, over, endometrium, akciğer, uterin serviks, baş-boyun ve gastrointestinal sistem tümörlerinde farklı oranlarda ErbB-2 overekspresyonu tespit edilmiştir (56-65). Mide kanserinin tedavisinde, ErbB-2 overekspresyonu gösteren vakalarda, ErbB-2'ye yönlenmiş monoklonal antikor olan trastuzumabın standart tedavi (5-FU veya capacitabine ve cisplatin) ile kombine edildiğinde, tek başına verilen standart tedaviden üstün olduğu gösterilmiştir (84).

Mide kanserinde ErbB-2 overekspresyonu ilk defa immunhistokimyasal (IHC) boyama yöntemi ile 1986 yılında gösterilmiştir (85). Mide kanserlerindeki ErbB-2 overekspresyonu, meme kanserlerindeki oranlarla benzer sonuçlar göstermektedir (86). Mide kanserinde yapılan çalışmalarda ErbB-2 overekspresyonu %8-%28 arasında bulunmuştur (73-75,87-91). Yapılan çalışmalarda ErbB-2 ekspresyon oranları arasındaki farklılıklar, tümör histolojisi, çalışma metodlarının farklılığı, IHC boyama sonuçlarının farklı yorumlanmasına, vaka sayılarındaki farklılıklara ve tümör evresine bağlı olabilir.

Dursun ve ark. (74), yaptıkları 62 vakalık retrospektif çalışmada, ErbB-2 pozitifliğini %17,7 oranında saptamışlardır. Yonemura ve ark. (75), ErbB-2

overekspresyonunu %12,2 oranında bulmuşlardır. Uchino ve ark. (68), mide adenokarsinomunda ErbB-2 overekspresyonunu %11 oranında saptamışlardır. Chariyalertsak ve ark. (91), ErbB-2 overekspresyonunu, erken mide kanserlerinde %6,9, ileri evre mide kanserlerinde %15,9, rekürren ve inoperabl vakalarda %28,6 oranında tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada ilginç olarak, ileri evre mide kanseri olan 4 vakada primer tümörde ErbB-2 ekspresyonu saptanmazken, metastatik lenf nodlarında ErbB-2 pozitifliği tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, ErbB-2 pozitifliği olan vakaların, rekürren ve inoperabl mide kanserlerinde, daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Farklı ülkelerden 130 merkezin katıldığı, 3807 mide kanserli hastanın tarandığı önemli bir çalışmada ErbB-2 pozitifliği %22,1 oranında bulunmuştur (84).

Çalışmamızda, mide kanserli 32 olgunun tümör dokularında ErbB-2 overekspresyonu %15,6 olarak bulundu. Aynı vakaların periferik venöz kanlarında ise ErbB-2 overekspresyonu görülmedi. Çalışmamızdaki ErbB-2 overekspresyon oranı, diğer çalışmaların geneli ile uyum göstermektedir (15,16,65,70).

Mide kanserli hastalarda, ErbB-2 overekspresyonu ile prognostik faktörler (tümör invazyon derinliği, lenf nodu metastazı, histolojik tip, uzak metastaz, serozal invazyon, büyüme paterni) arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma sonuçları farklılıklar göstermektedir. İnvazyon derinliğine göre ileri evre, papiller histolojik tipte, karaciğer metastazı olan, iyi diferansiye, serozal invazyonu ve lenf nodu metastazı olan mide kanserlerinde ErbB-2 overekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (44,75,92). Sausa ve ark. (87), ErbB-2 overekspresyonu ile tümör lokalizasyonu ve venöz invazyon arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir. Jain ve ark. (93), ErbB-2 pozitifliği ile intestinal tip, tübüler tip ve ekspansif yayılım paterni arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bazı çalışmalarda ise, ErbB-2 overekspresyonu ile tümör invazyon derinliği, lenf nodu metastazı, venöz invazyon ile tümör yerleşim yeri arasında önemli bir ilişki saptanmamış ve ErbB-2'nin prognostik bir belirleyici olmadığı bildirilmiştir (68,74,94,95).

Çalışmamızda ErbB-2 pozitifliği ile uzak metastaz arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,04). ErbB-2 pozitif olan 4 vakada uzak metastaz varken, 1 vakada metastaz görülmedi.

Çalışmamızda vakaların, ErbB-2 pozitifliği ile tümör invazyon derinliği (p=0,08), lenf nodu metastazı (p=0,6), ve tümörün lokalizasyonu (p=0,2) arasındaki ilişki ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. İstatistiksel bir ilişki görülmemesine rağmen (P>0,05), ErbB-2 pozitif olan vakaların hepsinde lenf nodu tutulumunun olması, tümör invazyon derinliğine göre T3 (1 vaka) ve T4 (4 vaka) olması dikkat çeken bulgulardı. ErbB-2 pozitif olan 3 hastada tümör kardia, bir hastada korpus ve kardia, bir hastada ise korpus ve antrum yerleşimli olması dikkat çeken bulgulardı.

Mide kanserli hastalarda yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunda, ErbB-2 overekspresyonu Lauren sınıflamasına göre intestinal tipte, WHO'ya göre tubuler veya tubulopapiller tipte daha sık olduğu belirlenmiştir (44,75,76,87,90,96). Flejou ve ark. (95), ErbB-2 overekspresyonu gösteren vakaların hepsini Lauren sınıflamasına göre intestinal tipte bulmuştur. Tanner ve ark. (96), 131 mide kanserinin (65 vaka intestinal tip, 46 vaka diffüz tip, 20 vaka miks tip) alındığı çalışmada, ErbB-2 pozitifliği; 14 (% 21,5) vakada intestinal tip, 1 (%2,2) vakada diffüz tip, 2 (%5,3) vakada ise miks tip tümörde görülmüştür. Kim ve ark. (102), 248 mide kanserinin (96 vaka intestinal tip, 127 vaka diffüz tip, 25 vaka miks tip) alındığı çalışmada ErbB-2 pozitifliği; 16 (%16,6) vakada intestinal tip, 1 (%0,8) vakada diffüz tip, 2 (%8) vakada ise miks tip tümörde görülmüştür. Trastuzumabın mide kanserindeki tedavi etkinliğinin araştırıldığı ToGA çalışmasında ise, ErbB-2 pozitif olan vakaların %32,2'si intestinal tip, %20,4'ü miks tip, % 6.1'i diffüz tip tümördür. Histolojik tip ile ErbB-2 ekspresyonu arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (84).

Çalışmamız sonucunda ErbB-2 pozitif olan vakaların hepsi Lauren'a göre intestinal tip, WHO'ya göre tübüler tipte görüldü. Sonuçlarımız literatürdeki çalışmalarla uyumlu olmakla birlikte histolojik subtip ile (Lauren ve WHO sınıflaması) ErbB-2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (P>0,05).

Mide kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda ErbB-2 overekspresyonu iyi diferansiye adenokarsinomlarda, az diferansiye adenokarsinomlara göre daha sık olarak gözlendiği belirlenmiştir (68,69). Kimura ve ark. (94), mide kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada ErbB-2 overekspresyonu ile histolojik diferansiyasyon arasında ilişki olduğunu ve ErbB-2 overekspresyonunun iyi diferansiye mide adenokarsinomlu

hastalarda daha sık olduğunu bildirmişlerdir. Allgayer ve ark. (97), ErbB-2 overekspresyonunun iyi diferansiye adenokarsinomlu hastalarda daha sık gözlendiğini belirtmişler ancak fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda, ErbB-2 overekspresyonu az diferansiye adenokarsinomlu hastalarda daha sık gözlendi. Overekspresyon tespit edilen 5 olgunun 4 tanesi az diferansiye, bir tanesi orta diferansiye idi. Bununla beraber, istatistiksel olarak ErbB-2 overekspresyonu ile histolojik diferansiyasyon derecesi arasında anlamlı ilişki bulunamadı (P>0,05).

Mide kanserlerinde yapılan çalışmalar, ErbB-2 overekspresyonu gösteren vakaların, göstermeyen vakalara göre daha düşük bir sağ kalım oranına sahip olduklarını ve ErbB-2 overekspresyonunun kötü prognostik faktör olduğunu göstermiştir (44,68,72,75,92). Tanner ve ark. (96), mide ve gastroözefagial birleşke kanserinde, ErbB-2 overekspresyonunun düşük sağkalım oranı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Bazı çalışmalarda ise, ErbB-2 overekspresyonu ile düşük sağkalım arasında ilişki bulunamamıştır (98,99). Jain ve ark. (93), ilginç olarak, ErbB-2 pozitif olan vakaların, negatiflere göre anlamlı derecede daha iyi prognozlu olduğunu bildirmişlerdir.

ErbB-2 overekspresyonunun gösterilmesinde sık olarak IHC boyama kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar, ErbB-2 protein ekspresyonunun, ErbB-2 gen amplifikasyonunun bir sonucu olduğu yönündedir (69,80,92). IHC boyama ile yapılan çalışmalarda farklı sonuçların çıkması, fluorescence in situ hybridization (FISH) ve RT-PCR yöntemleri ile ErbB-2 gen amplifikasyonunun gösterilmesini gündeme getirmiştir. İshikawa ve ark. (100), 375 mide adenokarsinomlu hastada yaptıkları çalışmada ErbB-2 overekspresyonunu IHC boyama ile %10,4 oranında bulurken, FISH ile %5 oranında bulmuşlardır. Kimura ve ark. (94), FISH sonuçları ile aynı vakalardaki IHC boyama sonuçları arasında %83'lük sensitivite ve %98'lik spesifite oranları ile yüksek ilişki bulmuşlardır. FISH analizinin ErbB-2 overekspresyonu olan gastrik karsinomların tanımlanması için kullanılabileceğini ve ErbB-2'ye karşı hedeflenmiş antikor terapileri için uygun adayların belirlenmesinde IHC boyama, FISH veya her ikisinin de kullanılabileceği belirtilmiştir. Rosai ve ark. (101), en ideal yaklaşımın,

değerlendirmeye IHC boyama ile başlanması, eğer boyanma kuvveti +3 veya 0 ise uygulamaya son verilmesini, +1 veya +2 ise FISH ile gen amplifikasyonunun doğrulanmasını önermişlerdir.

Kim ve ark. (102), mide kanserli olgularda ErbB-2 overekspresyonunu IHC, FISH ve RT-PCR ile araştırmış ve üç yöntemi karşılaştırmışlardır. ErbB-2 overekspresyon oranı IHC yöntem ile %22, FISH yöntemi ile %7,6 bulunmuştur. İstatistiksel olarak, IHC boyama ile FISH sonuçları arasındaki korelasyon anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmada, IHC ile ErbB-2 negatif olan vakaların hepsinde FISH ile de overekspresyon tespit edilmezken, ErbB-2, +3 boyanan vakaların hepsinde FISH ile de overekspresyon tespit edilmiştir. ErbB-2, +1 ve +2 boyanan 147 vakanın sadece 9'unda FISH ile overekspresyon tespit edilmiştir. Aynı vakalar RT-PCR ile araştırıldığında FISH yöntemi ile overekspresyon tespit edilen vakalarda ErbB-2 gen oranı kantitatif olarak diğer vakalara göre daha yüksek oranda bulunmuştur. FISH ile RT-PCR sonuçları arasında %100'lük sensitivite ve %96,9'luk spesifite oranları ile yüksek ilişki bulunmuştur. Bu sonuçlar, IHC metoduyla +1 ve +2 kuvvetinde boyanma gösteren vakaların FISH ile gen amplifikasyonunun doğrulanmasını öneren çalışmalar ile uyumludur.

Çalışmamızda ErbB-2 overekspresyonu IHC boyama ve FISH yapılmadan RT-PCR ile araştırıldı. Hastaların tümör dokularında %15,6 oranında ErbB-2 pozitifliği tespit edildi. Sonuçlar RT-PCR ile yapılan çalışma sonuçları ile uyumluydu.

Mide kanseri genelde inoperabl safhada tespit edilir ve bu aşamada da hastalığın tedavisinde temel yaklaşım kemoterapidir. Kemoterapi rejimi olarak uluslararası kabul gören, surviye olumlu katkıda bulunan ideal bir tedavi rejimi olmamasından dolayı yeni tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Meme kanserinde anti HER2/Neu antikoru ile iyi klinik sonuçlar alınması, diğer solid tümörlerde HER2/Neu ekspresyonunun araştırılmasına ve HER2/Neu antikorunun tedavide kullanılmasını gündeme getirmiştir (102).

Trastuzumabın antitümöral aktivitesi iki mekanizma ile olmaktadır; direk olarak HER2 proteininin sinyal yolunu bloke ederek down-modulation ile antiproleferatif etki gösterir ve tümör hücrelerine yönelik apoptik sinyali aktive eder. Dolaylı yoldan ise,

antikor bağımlı sitotoksik aktive ile antitümöral aktivite gösterir (103,104). Trastuzumabın mide kanseri üzerindeki etkilerine yönelik yapılan çalışmalar, preklinik ve hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar ile klinik uygulamalar olarak iki grup altında incelenebilir (105).

ErbB-2 overekspresyonu gösteren mide kanseri hücreleri ve xenogreft modeller üzerinde trastuzumabın etkinliğini araştıran birkaç çalışma vardır. Tanner ve ark. (96), ErbB-2 overekspresyonu tespit edilen mide ve özofagogastrik bileşke kanserlerinde, tümör dokularının trastuzumaba olan cevabını incelemişlerdir. İn vitro hücre kültüründe yapılan incelemede, mide ve meme kanseri hücre serilerinde, tümör hücrelerindeki büyümenin baskılanması her iki grupta eşit etkinlikte gerçekleşmiştir.

Matsui ve ark. (106), dört mide kanseri hücre serisi üzerinde trastuzumabın etkinliğini in vitro ve sıçan modeli üzerinde araştırmışlar, in vitro olarak trastuzumabın hücre proleferasyonunu önemli derecede azalttığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmada subkutan tümör hücreleri enjekte edilerek tümörün peritoneal yayılımı sonucu asit oluşumu sağlanan sıçanlarda, trastuzumabın tümör büyümesini önemli derecede baskıladığını göstermişlerdir.

Fujimoto-Ouchi ve ark. (107), trastuzumabın in vitro ortamda direk ve dolaylı olarak kanser hücrelerinde antiproleferatif etkinliğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada trastuzumabın tek ajan ve kombine kemoterapi ile mide kanseri oluşturulmuş sıçanlardaki etkinliği de araştırılmıştır. Tek ajan olarak trastuzumab verildiğinde ErbB-2 overekspresyonu olan hayvanlarda tümör büyümesi inhibe olurken, ErbB-2 overekspresyonu olmayan hayvanlarda ise tümör dokusu büyümeye devam etmiştir. Trastuzumabın antitümör etkinliğinin, başka bir kemoterapotik (paclitaxel, docetaxel, capecitabine, cisplatin, veya irinotecan) ajan ile kombine verildiğinde, tek ajan olarak verilmesine göre önemli derecede daha fazla olduğu bulunmuştur. Cisplatin, capecitabine ve trastuzumab kombinasyonunda tümör büyüme inhibisyonunun diğer monoterapi ve ikili kombinasyonlara göre daha üstün olduğu bildirilmiştir.

Trastuzumabın ErbB-2 overekspresyonu olan mide kanserindeki etkinliğine yönelik klinik çalışmalar da devam etmektedir. Corte´s-Funes ve ark. (108), trastuzumab ve cisplatinin ErbB-2 overekspresyonu gösterilen 17 ileri evre mide

kanserindeki etkinliğini araştırdıkları faz 2 çalışmasında, hastalara trastuzumab (ilk doz 8 mg/kg, idame dozu 6 mg/kg) ve cisplatin (75 mg/m²), 21 günlük aralıklarla uygulanmıştır. Çalışmanın ön sonuçlarında bir hastada tam remisyon, 5 hastada kısmi remisyon görülürken, 3 hastada hastalığın stabilizasyonu sağlanmıştır. Tedavinin yan etkilerinin de araştırıldığı çalışmada şu ana kadar toksisite bildirilmemiştir.

Nicholas ve ark. (109), trastuzumab, cisplatin ve docetaxel kombinasyonunun ErbB-2 pozitif 9 hastadaki sonuçlarını inceledikleri faz 2 çalışmasının erken sonuçlarında, 1 hastada tam remisyon, 3 hastada parsiyel remisyon ve bir hastada hastalığın stabilizasyonunun sağlandığını bildirmişlerdir. Hastaların biri, muhtemelen çalışmaya bağlı stent oynaması sonucu üst gastrointestinal sistem kanamasından ölmüştür. Tedavinin yan etkisi olarak 1 hastada periferik nöropati, 1 hastada abdominal kramp ve 1 hastada da nötropeni görülmüştür.

Trastuzubamın ErbB-2 overekspresyonu olan mide kanseri tedavisindeki etkinliğini araştıran önemli çalışmalardan biride, bir faz 3 çalışması olan ToGA çalışmasıdır. Bu çalışma farklı ülkelerden 130 merkezin katkısıyla devam etmektedir. Çalışmada daha önce tedavi almamış ileri evre mide ve gastroözefageal kanser tanısı almış, ErbB-2 overekspresyonu olan 584 hastanın trastuzumab tedavisine yanıtı incelenmiştir. Çalışmada bir gruba cisplatin ve fluoropyrimidine (araştırıcının tercihine göre capecitabine veya 5-fluorouracil) diğer gruba ise cisplatin, fluoropyrimidine ve trastuzumab (ilk doz 8 mg/kg, idame dozu 6 mg/kg) 6 kür, 3 haftada bir verilmiştir. 29 Mayıs-2 Haziran 2009 tarihleri arasında yapılan 45. ASCO (American Society of Clinical Oncology) toplantısında çalışmanın sonuçları açıklanmıştır. Sonuçlara göre; trastuzumab alan kolda ortalama yaşam süresi, almayan kola göre istatistiksel olarak anlamlı derecede üstün bulunmuştur. Yine tedaviye karşılık verme oranları trastuzumab alan kolda, almayan kola göre üstün bulunmuştur. Tedavinin yan etkileri incelendiğinde her iki kolda da semptomatik kalp yetmezliği görülmezken, asemptomatik sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda azalma trastuzumab alan grupta %4,6, almayan grupta %1,1 olarak bulunmuştur (105,111).

Preklinik ve klinik çalışmaların yanında tedavide trastuzumabın verildiği vaka sunumları da bildirilmiştir. Rebischung ve ark. (110), 28 yaşında sağ over metastazı

yapmış mide adenokarsinomlu bayan hastaya, first line tedavide fluorouracil ve cisplatin, second line tedavide docetaxel ve irinotecan verilmesinden sonra hastalığın progresyon göstermesi üzerine third line tedavi olarak trastuzumab ve oxaliplatin uygulamışlardır. Tedavinin üçüncü ayında tam remüsyon görülmüş, fakat periferik nöropati nedeni ile tedavinin son onsekiz ayında oxaliplatin stoplanmış ve tedaviye sadece trastuzumab ile devam edilmiştir. Fakat, hastada tedaviye rağmen akciğer ve karaciğer metastazı gelişmesi üzerine tedavi olarak capecitabine ve trastuzumab birlikte verilmiş ve tedavinin on ikinci ayında hastalık ve metastazlarının kontrol altına alındığını bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda, trastuzumabın tek ajan olarak verilmesinden ziyade, kombine olarak verilmesinin daha etkili olduğu vurgulanmıştır.

Sonuç olarak, bölgemizdeki mide kanserli hastalarda ErbB-2 overekspresyonu IHC boyama ve FISH yapılmadan RT-PCR ile araştırıldı. Hastaların tümör dokularında ErbB-2 pozitifliği %15,6 oranında bulundu. Mide kanseri tanısı konulan hastalarda humanize monoklonal antikor tedavisi için önemli bir biomarker olan ErbB-2 overekspresyonuna bakılmasının uygun olacağı ve ErbB-2 pozitifliği olan vakalarda, ErbB-2'ye yönlenmiş monoklonal antikor tedavisinin (trastuzumab) mide kanserinin tedavisinde etkili olabileceği düşünüldü. Böyle bir tedavinin hastaların en az %15-%20'sinde, tedavi açısından bir umut ışığı olabileceği kanaati uyandı. Trastuzumab tedavisi, günümüzün çok popüler konusu olan neoadjuvan kemoterapi protokollerine yeni bir açılım getirerek, cerrahi tedavinin daha başarıyla uygulanmasını, umutsuz durumdaki bir çok hastanın belkide tam şifaya kavuşmasını sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR

Mide kanserinde ErbB-2 overekspresyonunun araştırıldığı bu çalışmada sonuç olarak:

1. Çalışmaya alınan 32 mide kanserli vakanın, 5'inde (%15,6) ErbB-2 pozitifliği saptandı.

2. Vakaların, diferansiyasyon dereceleri (p=0,7), tümör invazyon derinliği (p=0,08), lenf nodu metastazı (p=0,6), Lauren sınıflaması (p=0,4), WHO sınıflaması (p=0,3), TNM evrelemesi (p=0,3) ve tümörün lokalizasyonu (p=0,2) ile ErbB-2 pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi.

3. Çalışmamızda istatistiksel bir ilişki görülmemesine rağmen (P>0,05), ErbB-2 pozitif olan vakaların; hepsinde lenf nodu tutulumunun olması, tümör invazyon derinliğine göre T3 (1 vaka) ve T4 (4 vaka) olması, TNM evrelemesine göre ileri evrede (evre 3 ve 4) olması dikkat çeken bulgulardı.

4. Çalışmamız sonucunda ErbB-2 pozitif olan vakaların hepsi Lauren'a göre intestinal tip, WHO'ya göre tübüler tipte görüldü. Sonuçlarımız literatürdeki çalışmalarla uyumlu olmakla birlikte histolojik subtip ile (Lauren ve WHO sınıflaması) ErbB-2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (P>0,05).

5. Hastalardaki uzak metastaz ile ErbB-2 pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,04). ErbB-2 pozitifliği olan 4 hastada uzak metastaz varken 1 hastada uzak metastaz görülmedi.

6. Bölgemizdeki mide kanseri hastalarında ErbB-2 overekspresyon oranı (%15,6) göz önüne alındığında, mide kanserli hastaların tedavisine önemli katkı sağlayacağından dolayı ErbB-2 ekspresyonuna bakılmasının uygun olacağı düşünüldü.

7. ErbB-2 pozitifliği olan vakalarda, ErbB-2'ye yönlenmiş monoklonal antikor tedavisinin (trastuzumab) mide kanserinin tedavisinde etkili olabileceği düşünüldü.

7. KAYNAKLAR

1. Dan LL. Neoplastic Disorders. In: Fauci AS, Braunwald E., Issebacher JK., Wilson DJ., Martin BJ. (eds). Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th. edition. New York: McGraw-Hill, 2005: 435-440.
2. Kanserle Savaş Politikası ve Kanser Verileri (1995-1999), T.C Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı, Ankara, 2002: 12-16.
3. İçli F, Akbulut H. Onkolojiye Giriş. İçinde: İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S (yazarlar). İç Hastalıkları. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003: 2007-2015.
4. Junttila TT, Laato M, Vahlberg T, et al. Identification of patient with transitional cell carcinoma of the bladder overexpressing ErbB2, ErbB3, or spesific ErbB4 isoforms: real-time reverse transcription-PCR analysis in estimation of ErbB receptor status from cancer patients. Clin Cancer Res 2003; 9: 5346-5357.
5. Mu XL, Li LY, Zhang XT, et al. Gefitinib-sensitive mutations of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase domain in Chinese patients with non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2005; 11: 4289-4294.
6. Onur H. Kanser Epidemiyolojisi. İçinde: İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S (yazarlar). İç Hastalıkları. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003: 2020-2034.
7. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005; 55: 74-108.
8. Koh TJ, Wang TC. Tumors of the stomach. In: Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH (eds.). Gastrointestinal and Liver Disease. Philadelphia: WB Saunders, 2002: 829-855.
9. Engel SL, Chow WH, Vaughan TL, et al. Population attributable risks of esophageal and gastric cancers. J Natl Cancer Inst 2003; 95: 1404-1413.
10. Liu C, Crawford JM. The Gastrointestinal Tract. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N (eds). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005: 797-876.
11. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma. Review and considerations for future directions. Ann Surg 2005; 241: 27-39.

12. Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE, Listrom MB, Rilke FO (eds). The Neoplastic Stomach. In: Gastrointestinal pathology. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1999: 237-274.
13. Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. N Engl J Med 1995; 333: 32-41.
14. Mayne ST, Navarro SA. Diet, obesity and reflux in the etiology of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia in humans. J Nutr 2002; 132: 3467-3470.
15. Correa P. Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process First American Cancer Society Award Lecture on cancer epidemiology and prevention. Cancer Res 1992; 52: 6735-6740.
16. Palestro G, Pellicano R, Fronda GR, et al. Prevalance of Helicobacter pylori infection and intestinal metaplasia in subjects who had undergone surgery for gastric adenocarcinoma in Northwest Italy. World J Gastroenterol 2005; 11: 7131-7135.
17. Rosai J. Gastrointestinal tract. In: Rosai J, Ackerman LV (eds). Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 9th. edition. China: Mosby, 2004: 615-872.
18. Silverberg SG, DeLellis RA, Frable WJ, LiVolsi VA, Wick MR (eds). The stomach. In: Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology, 4th. edition. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2006: 1321-1372.
19. Tersmette AC, Offerhaus GJA, Tersmette KWF, et al. Meta-analysis of the risk of stump cancer: detection of high risk patient subsets for stomach cancer remote partial gastrectomy for benign conditions. Cancer Res 1990; 50: 6486-6489.
20. Stalnikowicz R, Benbassat J. Risk of gastric cancer after gastric surgery for benign disorders. Arch Intern Med 1990; 150: 2022-2026.
21. Sipponen P, Kekki M, Siurala M. Atrophic chronic gastritis and intestinal metaplasia in gastric carcinoma. Comparison with a representative population sample. Cancer 1983; 52: 1062-1068.
22. Mac Donald WC, Owen DA. Gastric carcinoma after surgical treatment of peptic ulcer: an analysis of morphologic features and a comparison with cancer in the nonoperated stomach. Cancer 2001; 91: 1732-1738.
23. David N. Lewin and Klaus J. Malignant: Adenocarcinoma, Stomach. In: Weidner N, Cote RJ, Suster S, Weiss LM (eds). Modern Surgical Pathology. 1st. edition. Philadelphia: Saunders; 2003: 672-680.

24. Robert A, Halvorsen J, Judy Y, Vincent D. McCormick VD. Diagnosis and Staging of gastric Cacer. Semin Oncol 1996; 23: 325-335.
25. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Biology of Tumor Growth, Neoplasia İn: Frederick J Schoen (eds). Robbin's Pathology 5th edition. WB Saunders; 1992: 293-296.
26. Sclemper RJ, İtebashi M, et.al. Differences in diagnostic criteria for gastric carcinoma between Japanese and Western pathologist. Lancet 1997; 349: 1725-1729.
27. Lauren T. The two histologic main types of gastric carsinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. Acta Pathol Microbiol Scand 1965; 64: 31-49.
28. Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Belli J, Stemmermann GN. Pathologic and Phenotypic Features of Gastric Cancer. Semin Oncol 1996; 23: 292-306.
29. Ming SC. Gastric carcinoma. A pathological classification. Cancer 1977; 39: 2475-2482.
30. Fenoglio-Preiser CM, Carneiro F, Correa P, Gulford P, Lambert R, Megraud F. Gastric Carcinoma. In: Hamilton SR, Aaltonen LA (eds). Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System, World Health Organization Classification of Tumours. Lyon: IARCPress, 2000: 37-52.
31. Martin IG, Dixon MF, Sue-Ling H, Axon ATR, Johnston D. Goseki histological grading of gastric cancer is an predictor of outcome. Gut 1994; 35: 758-63.
32. Fleming ID (ed). Stomach. In: AJCC Cancer Staging Handbook. 6th. edition. New York: Springer. 2002; 111-119.
33. Wanobo HJ, Kennedy BJ, Chmiel J, Steele G, Winchester D, Osteen R. Cancer of the stomach. A patient care study by the American College Of Surgeons. Ann Surg 1992; 218: 583-592.
34. İtoh H, Oohata Y, Nakamura K, Nagata T, Mibu R, Nakayama F. Complete ten year postgastrectomy follow-up of early gastric cancer. Am J Surg 1989; 158: 14-16.
35. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma. Review and considerations for future directions. Ann Surg 2005; 241: 27-39.
36. Chang HM, Jung KH, Kim TY, et al. A phase III randomized trial of 5-fluorouracil, doxorubicin and mitomycin C versus 5-fluorouracil and mitomycin C versus 5-

fluorouracil alone in curatively resected gastric cancer. Ann Oncol 2002; 13: 1779-1885.

37. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. N Engl J Med 2001; 345: 725-730.
38. Başaran N. Tıbbi Genetik. Eskişehir: Bilim Teknik Yayınevi. 1996: 357-368.
39. Fausto N. Neoplasia in: Cotran RS, Kumar V, Robins SL (eds.). Pathologic Basis of Disease. 6th Edition. Philadelphia: WB Saunders, 1999: 260-327.
40. Becker KF, Keller G, Hoefler H. The use of molecular biology in diagnosis and prognosis of gastric cancer. Surg Oncol 2000; 9: 5-11.
41. Kahraman A. Kanserde Tümör Supresör Genlerin Etkisi. Sendrom 2003; 2: 71-77.
42. Kakeji Y, Koronaga D, Tsujitani S, et al. Gastric Cancer with P53 overexpression has high potential for metastasising to lymph nodes. Br J Cancer 1993; 67: 589-593.
43. Tamura G, Maesawa C, Suzuki Y, et al. Mutations of the APC gene occur during early stages of gastric adenoma development. Cancer Res 1994; 54: 1149-1151.
44. Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, et.al. Evalution of immünreactivity for c-erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. Cancer Res 1991, 51: 1034-1038.
45. Motojima K, Furui J, Kohara N, Izawa K, Kanematsu T, Shiku H. erbB-2 expression in well diferantiated adenocarcinoma of the stomach predicts shorter survival after curative resection. Surgery 1994; 115: 349-354.
46. Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, et al. E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinoma. Cancer Res 1994; 54: 3845-3852.
47. Yarden Y. Biology of HER2 and It's Importance in Breast Cancer. Oncology 2001; 61: 1-13.
48. Schlessinger J. Cell Signaling by receptor tyrosine kinases. Cell 2000; 103: 211-225.
49. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer: signalling mechanisms and therapeutic opportunities. Eur J Cancer 2000; 37: 3-8.
50. Hynes N, Stern D: The biology of c-erbB-2 and its role in cancer. Biochim Biophys Acta 1994; 1198: 165-184.

51. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer. Correlation of relapse and survival with amplification of the c-erbB-2 oncogene. Science 1987; 235: 177-182.
52. Guerin M, Gabillot M, Mathieu MC, et al. Structure and expression of c-erbB-2 and EGF receptor genes in inflammatory and noninflamatory breast cancer: Prognostic significance. Int J Cancer 1989; 43: 201-208.
53. Berger MS, Locher GW, Sauer S, et al. Correlation of c-erbB-2 gene amplication and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. Cancer Res 1988; 48: 1238-1243.
54. Van De Vijver MJ, Mool WJ, Wisman P, Peterse JH, Nusse R. Immunhistochemical detection of the neu protein in the tissue sections of human breast tumors with amplified neu DNA. Oncogene 1988; 2: 175-178.
55. Kallioniemi OP, Holli K, Visakorpi T, Koivula T, Helin HH, Isola JJ. Association of c-erbB-2 Protein overexpression with high rate of cell proliferation, increasing risk of visseral metastasis and poor long-term survival in breast cancer. Int J Cancer 1991; 49: 650-655.
56. Seidman JD, Frisman DM, Norris HJ. Expression of the HER-2/neu protooncogene in serous ovarian neoplasms. Cancer 1992; 70: 2875-2880.
57. Day JD, Diqiuseppe JA, Yeo C, et al. İmmunohistochemical evaluation of HER-2/neu expression in pancreatic adenocarcinoma and pancretic intraepithelial neoplasms. Hum Pathol 1996; 27: 119-124.
58. Apple SK, Hecht JR, Lewin DN, Jahromi SA, Grodhy WW, Nieberg RK. Immunhistochemical evaluation of K-ras, P53 and HER-2/neu expression in hyperplastic, dysplastic and carcinamatous lesions of the pancreas; evidence for multistep carcinogenesis. Hum Pathol 1999; 30: 123-129.
59. Eltze E, Wülfing C, Von Struensee D, Piechota H, Buerger H, Hertle L. Cox-2 and Her2/neu co-expression in invasive bladder cancer. Int J Oncol 2005; 26: 1525–1531.
60. Ross JS, Sheean C, Hayner-Buchan AM, et al. HER-2/neu gene amplication status in prostate cancer by flourescence insutu hybridization. Hum Pathol 1997; 28: 827-833.
61. Schuell B, Gruenberger T, Scheithauer W, Zielinski Ch, Wrba F. HER 2/neu protein expression in colorectal cancer. BMC Cancer 2006; 8: 123.

62. Hetzel DJ, Wilson TO, Keeney GL, Roche PC, Cha SS, Podratz KC. HER-2/neu expression: a major prognostic factor in endometrial cancer. Gynecol Oncol 1992; 47: 179-185.
63. Hirashima N, Takahashi W, Yoshii S, Yamane T, Ooi A. Protein overexpression and gene amplification of c-erbB-2 in pulmonary carcinomas: a comparative immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study. Mod Pathol 2001; 14: 556-662.
64. Mitra AB, Murty VS, Pratap M, Sodhani P, Chaganti RS. ERBB2 (HER2/neu) oncogene is frequently amplified in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Cancer Res 1994; 54: 637-639.
65. Beckhardt RN, Kiyokawa N, Xi L, et al. HER-2/neu oncogene characterization in head and neck squamous cell carcinoma. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1995; 121: 1265-1270.
66. Mellon JK, Lunec J, Wright C, Horne CH, Kelly P, Neal DE. c-erbB-2 in bladder cancer. Moleculer biology corelation with epidermal growth factor receptörs and prognostic value. J Urol 1996; 155: 321-326.
67. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer. correlation of relapse and survival with amplification of the c-erbB-2 oncogene. Science 1987; 235: 177-182.
68. Uchino S, Tsuda H, Maruyama K, et al. Overexpression of c-erbB-2 protein in gastric cancer. Its correlation with long term survival of patients. Cancer 1993; 72: 3179-3184.
69. Kameda T, Yasui V, Yoshida K, et al. Expression of c-erbB-2 in human gastric carcinomas: relationship between p185 and c-erbB-2 expression and gen amplication. Cancer Res 1990; 50: 8002.
70. Lam KY, Tin L, Ma L. C-erbB-2 ptotein expression in a esophageal squamaus epithelium from esophageal squamöz cell carcinoma with special reference to histological grade of carcinoma and pre-invasive lesions. Eur J Surg Oncol 1998; 24: 431-435.
71. Naritaka Y, Ogawa K, Shimakawa T, et al. Collision carcinoma of the residual cervical carcinoma esophagus 27 years after esophageal surgery. Anticancer Res 2007; 27: 505-511.

72. Kim YJ, Ghu HD, Kim DY, Kim HJ, Kim SK, Park CS. Expression of Cellular Onkogenes in Human Gastric Carcinoma: c-myc, c-erbB-2 and K-ras. J Surg Oncol 1993, 54: 167-170.
73. Gürel S, Dolar E, Yerci Ö, et al. The relationship between c-erbB-2 oncogene expression and clinicopathological faktors in gastric cancer. J Int Med Res 1999; 27: 74-78.
74. Dursun A, Poyraz A, Çelik B, Akyol G. Expression of c-erbB-2 Oncoprotein in gastric carcinoma: Correlation with Histopathologic Charesteristics and Analysis of Ki-67. Pathol Oncol Res 1999; 5: 104-106.
75. Yonemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S, et al. Expression of c-erbB-2 oncoprotein in gastric carcinoma. İmmünreactivity for c-erbB-2 protein is an indipentent indicatör of poor short–term prognosis in patients with gastric carcinoma. Cancer 1991; 67: 2914-2918.
76. Funato T, Kozawa K, Fujimaki S, Miura T, Kaku M. İncreased sensivity to cisplatin in gastric cancer by antisense inhibition of the c-erbB-2 gene. Chemoteraphy 2001; 47: 297-303.
77. Tsigris C, Karayinannakis AJ, Syrigos KN, et al. Clinical significance of soluble c-erbB-2 levels in the serum and urine of patients with gastric cancer. Anticancer Res 2002; 22: 3061-3065.
78. Bartlett JMS, Mallonb E, Cooke T. Molecular diagnostics for determination of HER2 status in breast cancer. Curr Diagnos Pathol 2003; 9: 48-55.
79. Dowsett M; Cooke T; Ellis I; et al. Assessment of HER2 status in breast cancer: why, when and how?. Eur j cancer 2000; 36: 170-176.
80. Anderson SM, Everett T, HER-2/neu Oncoprotein. A New Target in the Treatment of Breast Cancer. (www.oncogene.com/pdf/BC_Trtmnt.pdf)
81. Leary JO. In situ amplification. In: Lo YMD (eds). Clinical Amplications of PCR, USA: Humana Pres, 1998: 109-145.
82. Todd AV, Fuery CJ, Impey HL, Applegate TL, Haughton MA. DzyNA-PCR: use of DNAzymes to detect and quantify nucleic acid sequences in a real-time fluorescent format. Clin Chem 2000; 46: 625-630.
83. Barros F. Rapid gene dosage determination by RT fluorescent PCR. Clin Chem 2000; 46: 1574-1582.

84. Bang Y, Chung H, Xu J, et al. Pathological features of advanced gastric cancer (GC): Relationship to human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) positivity in the global screening programme of the ToGA trial. J Clin Oncol (Meeting Abstracts) 2009; 27: LBA4556
85. Sakai K, Mori S, Kawamoto T. et al. Expression of epidermal growth factor receptors on normal human gastric epithelia and gastric carcinomas. J Natl Cancer Inst 1986; 77: 1047-52.
86. Kono K, Takahashi A, Ichıhara F, Sugai H, Fujii H, Matsumoto Y. İmpaired Antibody–dependent Cellular Cytotoxicity Mediated by Herceptin in patient with Gastric Cancer. Cancer Res 2002; 62: 5813-5817.
87. Pinto-de–Sausa J, David L, Almeida R, et al. c-erbB-2 expression is associated with tumor lokation and venous invasion and ınfluences survival of patients with gastric carcinoma. Int J Surg Pathol 2002; 10: 247-256.
88. Takehana T, Kunitomo K, Kono K, et al. Status of c-erbB-2 in gastric adenocarcinoma: Acomparative study of immünohistochemistry, fluoresence insutu hybridization and enzyme linked immünsorbent assay. Int J Cancer 2002; 98: 833-837.
89. Park JB, Rhim JS, Park SC, Kimm SW. Amplication, overexpression and rearrengament of the c-erbB-2 protooncogene in primary stomach carcinomas. Cancer Res 1989; 49: 6605-6609.
90. Yokota J, Yamamato T, Miyajima N. Genetic alterations of the c-erbB-2 oncogene occur frequently in tubuler adenocarcinoma of the stomach and are often accompained by amplication of the v-erbA homologue. Oncogene 1988; 2: 283-287.
91. Chariylertsak S, Sugano K, Mari Y. Comparasion of c-erbB-2 oncoprotein expression in tissue and serum of patients with stomach cancer. Tumour Biol 1994; 15: 294-303.
92. Mizutani T, Onda M, Tokunaga A, Yamanaka N, Sugisaki Y. Relationship of c-erbB-2 protein Expression and gene amplication to invasion and metastasis in Human Gastric Cancer. Cancer 1993; 72: 2083-2088.
93. Jain S, Filipe MI, Gullick WJ, Linehan J, Morris RW. C-erbB-2 protooncogene expression and its relationship to survival in gastric carcinomas: an immünhistochemical study on archival material. Int J Cancer 1991; 48: 668-671.

94. Kimura M, Tsuda H, Morita D, et al. A probosal for diagnostically meningful criteria to classify increased epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 gene copy numbers in gastric carcinoma, based on corelation of flourescence insutu hybridization and immünhistochemical measurements. Virchows Arch 2004; 445: 255-262.
95. Flejou JF, Paraf F, Muzeau F, et al. Expression of c-erbB-2 oncogene product in Barrett's adenocarcinoma: Pathological and prognostic correlations. J Clin Pathol 1994; 47: 23-26.
96. Tanner M, Hollmen M, Junntilla T, et al. Amplication of HER-2 in gastric carcinoma: assosiacion with Topoisomerase 2 gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to transtuzumab. Ann Oncol 2005; 16: 273-278.
97. Allgayer H, Babic R, Grützner KU, Tarabichi A, Heiss MM. C-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated protease systems. J Clin Oncol 2000; 18: 2201-2209.
98. Polkowski W, van Sandick JW, Offerhaus GJ, et al. Prognostic value of Lauren classification and c-erbB-2 oncogene overexpression in adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. Ann Surg Oncol 1999; 6: 290-297.
99. Albino AP, Jacne J, Altorki N, et al. Amplication of c-erbB-2 gene in human gastric carcinomas: Correlation with primary site. Eur J Surg Oncol 1995; 21: 56-60.
100. Ishikawa T, Kobayashi M, Mai M, Suzuki T, Ooi A. Amplication of the c-erbB-2 gene in gastric cancer cells. Detection by flourescence insutu hybridization. Am J Pathol 1997; 151: 761-768.
101. Rosai J. Carcinoma Stomach. In: Rosai J, Ackerman LV (eds). Rosai and Ackerman's Surgical Pathology 9th edition. China: Mosby; 2004: 662-772.
102. Kim MA, Jung EJ, Lee HS, et al. Evaluation of HER-2 gene status in gastric carcinoma using immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization and real-time quantitative polymerase chain reaction. Hum Pathol 2007; 38: 1386- 1393.
103. Sliwkowski MX, Lofgren JA, Lewis GD, Hotaling TE, Fendly BM, Fox JA. Non clinical studies addressing the mechanism of action of trastuzumab (Herceptin). Semin Oncol 1999; 26: 60-70.
104. Cuello M, Ettenberg SA, Clark AS, et al. Down-regulation of the erbB-2 receptor by trastuzumab (herceptin) enhances tumor necrosis factor-related

apoptosis inducing ligand-mediated apoptosis in breast and ovarian cancer cell lines that overexpress erbB-2. Cancer Res 2001; 61: 4892-4900.

105. Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. Ann Oncol 2008; 19: 1523-1529.

106. Matsui Y, Inomata M, Tojigamori M, Sonoda K, Shiraishi N, Kitano S. Suppression of tumor growth in human gastric cancer with HER2 overekspresyon by an anti-HER2 antibody in a murine model. Int J Oncol 2005; 27: 681-685.

107. Fujimoto-Ouchi K, Sekiguchi F, Yasuno H, Moriya Y, Mori K, Tanaka Y. Antitumor activity of trastuzumab in combination with chemotherapy in human gastric cancer xenograft models. Cancer Chemother Pharmacol. 2007; 59: 795-805.

108. Corte´s-Funes H, Rivera F, Ale´s I, et al. Phase II of trastuzumab and cisplatin in patients with advanced gastric cancer with HER2/neu overekspresyon/amplification (Abstr 4613). J Clin Oncol 2007; 15: 18.

109. Nicholas G, Cripps C, Au H-P, et al. Early results of a trial of trastuzumab, cisplatin and docetaxel for the treatment of metastatic gastric cancer overexpressing HER-2 (Abstr 1105). ESMO 2006; 17: 316.

110. Rebischung C, Barnoud R, Stéfani L, Faucheron JL, Mousseau M. The effectiveness of trastuzumab (Herceptin) combined with chemotherapy for gastric carcinoma with overekspresyon of the c-erbB-2 protein. Gastric Cancer 2005; 8: 249-252.

111. Cutsem EV, Kang Y, Chung H, et al. Efficacy results from the ToGA trial: A phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer (GC). J Clin Oncol (Meeting Abstracts) 2009; 27: LBA4509

ONAY

"Mide Kanserli Hastalarda ErbB-2 Overekspresyonunun Araştırılması" adlı çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nın 06.07.2006 tarih 4 sayılı oturum 7 nolu kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'nın 13.02.2009 tarih ve 1 nolu toplantı kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nın 25.03.2009 tarih ve 2 sayılı oturum, 9 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir. 06.08.2009

Prof.Dr.Mehmet GÜNDOĞDU
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Mide Kanserli Hastalarda ErbB-2 Overekspresyonunun Araştırılması

Dr. Habib EMRE

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi	: 19.07.2004
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi	: 06.08.2009
Uzmanlık Sınavı Tarihi	: 06.08.2009
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Salim Başol TEKİN
Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. Nihat OKÇU
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. Sait KELEŞ
Jüri Üyesi	: Doç. Dr. Leyla SAĞLAM

Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Ağustos-2009
ERZURUM