



T.C

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

MİDE ADENOKARSİNOM TANILI OLGULARDA  
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK SAPTANAN CERBB2'NİN mRNA  
DÜZEYİNDE ARAŞTIRILMASI VE KLİNİKOPATOLOJİK PROGNOSTİK  
BELİRTEÇLERLE OLAN İLİŞKİSİ

Dr. Ezgi Işıl TURHAN

UZMANLIK TEZİ

BURSA - 2018



T.C

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

MİDE ADENOKARSİNOM TANILI OLGULARDA  
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK SAPTANAN CERBB2'NİN mRNA  
DÜZEYİNDE ARAŞTIRILMASI VE KLİNİKOPATOLOJİK PROGNOSTİK  
BELİRTEÇLERLE OLAN İLİŞKİSİ

Dr. Ezgi Işıl TURHAN

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Berna AYTAÇ VURUŞKAN

BURSA – 2018

# İÇİNDEKİLER

Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	28
Bulgular.....	36
Tartışma ve Sonuç.....	52
Kaynaklar.....	58
Teşekkür.....	66
Özgeçmiş.....	67

## ÖZET

### MİDE ADENOKARSİNOM TANILI OLGULARDA İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK SAPTANAN CERBB2'NİN mRNA DÜZEYİNDE ARAŞTIRILMASI VE KLİNİKOPATOLOJİK PROGNOSTİK BELİRTEÇLERLE OLAN İLİŞKİSİ

Mide adenokarsinomları dünya genelinde artan insidansa sahip olup, kansere bağlı ölümlerde ilk sıralarda yer almaktadır.

Bu çalışmanın amacı, mide adenokarsinomlarında cerbB2 aktivasyonunun belirlenmesinde kullanılan nitel verilere dayanan immunohistokimya (İHK) sonuçlarının sayısal verilere dayanan Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) yöntemi ile validasyonunu gerçekleştirmek ve İHK çalışma ile skorlanmasında gri zonda kalınan dokularda cerbB2 durumunun kesin sonucunun verilmesine katkısını değerlendirmektir.

Çalışmamızda kliniğimizde 2011-2015 yılları arasında mide adenokarsinomu tanısı alan 80 olgu incelendi. Olguların klinikopatolojik verileri elektronik ortamdaki hasta dosyalarından elde edildi. Olguların cerbB2 immunohistokimyasal boyası ile ekspresyon özellikleri değerlendirildi. Eş zamanlı olarak RT-PCR yöntemi ile cerbB2 ekspresyon analizleri yapıldı.

cerbB2 antikoru kullanılarak yapılan çalışmada 80 olgunun 19 tanesinde pozitif immunreaktivite (%23,75) izlendi. Bu olgulardan 14 tanesinde (%17,5) zayıf pozitif (2+); 5 tanesinde (%6,25) kuvvetli pozitif (3+) immunreaktivite mevcuttu. RT-PCR yöntemi ile zayıf pozitif olan 14 olgunun 12'sinde (%75) gen ekspresyonunda artış izlendi. Kuvvetli pozitiflik gösteren 5 olgunun tamamında ise gen ekspresyonu yüksek saptandı. cerbB2 immunohistokimyasal bulguları ile gen ekspresyonu arasında %89 uyumluluk ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı.

Çalışmamızda intestinal tip mide kanserlerinin etyolojisinde suçlanan bir unsur olan Helikobacter pilori (H.pilori) ile cerbB2 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptandı.

CerbB2 ekspresyonu ile klinikopatolojik prognostik faktörler olan yaş, cinsiyet, tümör grade'i, patolojik tümör evresi, lenf nodülü tutulumu, uzak

metastaz gibi parametreler arası ilişki istatistiksel olarak araştırıldı ancak anlamlı sonuç elde edilemedi.

Sonuç olarak RT-PCR yönteminin; İHK ve in situ hybridization (ISH) yöntemlerine alternatif olabilecek ve gri zonda kalınan olguları aydınlayabilecek bir yöntem olduğu literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda gösterildi. Olgu sayısının artırılarak cerbB2 ekspresyonu ile klinikopatolojik prognostik parametreler arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptayabileceğimizin kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Mide adenokarsinomu, cerbB2, immunohistokimya, PCR.



## **ABSTRACT**

### **THE mRNA EXPRESSION ANALYSIS OF CERBB2 IN GASTRIC ADENOCARCINOMA and ITS CORRELATION WITH CLINICOPATHOLOGICAL PROGNOSTIC PARAMETERS**

Gastric adenocarcinomas show an increased incidence worldwide and are the leading causes of cancer-related deaths.

The aim of this study was to validate the qualitative results of immunohistochemistry (IHC) analysis in the determination of cerbB2 activation in gastric adenocarcinomas through quantitative results of Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) analysis and to evaluate the cerbB2 activation by RT-PCR for tissues that are not precisely classified through immunohistochemical staining.

In our study, we examined 80 cases diagnosed with gastric adenocarcinoma in our department between 2011 and 2015. The clinicopathological data were acquired from electronic patient files. The cerbB2 expression was evaluated by immunohistochemical staining and RT-PCR, simultaneously.

Among 80 gastric adenocarcinoma cases, the positive immunoreactivity (23,75%) was determined in 19 by immunohistochemical analysis using cerbB2 antibody. The 14 of those cases (17,5 %) show weak positive (2+) and the remaining 5 cases (6,25%) show strong positive (3+) immunoreactivity. The RT-PCR analysis determined an increase in gene expression levels at 12 out of 14 weak positive immunoreactive (75%) cases. High gene expression levels were detected in all 5 strong positive immunoreactive cases. We determined 89% correlation and strong statistical

coherence between *cerbB2* immunohistochemistry analysis and gene expression levels.

In our study, we also revealed a statistically significant relation between *cerbB2* expression and *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) infection which is considered as the most common cause of intestinal-type gastric adenocarcinoma.

The relation between *cerbB2* expression and clinicopathological prognostic factors such as age, sex, tumor grade, pathologic tumor stage, lymph node metastasis, distant metastasis was investigated and no statistically significant relation was found.

In conclusion, RT-PCR can be suggested as an alternative method to IHC and in situ hybridization (ISH) and can be considered as a reliable technique for accurate classification in accordance with medical literature. A statistically significant correlation between *cerbB2* expression and clinicopathological prognostic parameters can be found by increasing the number of cases included in the study.

**Keywords:** Gastric adenocarcinoma, *cerbB2*, immunohistochemistry, RT-PCR

# GİRİŞ

## 1. Genel Özellikler

Mide kanseri, gelişmiş ülkelerde son 50 yılda görülme sıklığı ve insidansı azalmış olsa da, hala tüm dünyada 4. sıklıkta görülmekte ve kansere bağlı ölümlerde 2. sırada yer almaktadır [1, 2]. Türkiye kanser istatistiklerine göre mide kanseri erkeklerde en sık görülen 2., kadınlarda ise 4. kanser türüdür [3]. Erken tanı alan olgular Asya toplumunda yaygın olsa da, birçok toplumda hastalar operasyon şansı olmayan ileri veya metastatik hastalık ile başvurmaktadır [4].

Mide kanseri gelişiminde çeşitli genetik ve epigenetik değişiklikleri içeren çok basamaklı kompleks bir süreç mevcuttur [5]. Human epidermal growth faktör reseptör 2 (HER-2/cerbB2) epidermal growth faktör reseptör (EGFR) ailesinin bir üyesidir ve bu protoonkogen tirozin kinaz aktivitesi olan bir transmembran reseptör glikoproteini kodlar [6]. Bu gen fosforillenip, tirozin kinaz aktivitesi açığa çıkınca hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonu ile ilgili sinyaller oluşur [6]. Bu reseptör proteininin overekspresyonu veya genin amplifikasyonu sonucu başta meme ve mide kanseri olmak üzere birçok malignite ortaya çıkar [6]. Tıpkı meme kanserinde olduğu gibi Trastuzumab tedavisinin kemoterapiye eklenmesi gastrik ve gastroözofageal bileşke kanserli hastalarda sağkalımı artırmaktadır [7].

Çalışmamızda mide adenokarsinomlarında HER-2 aktivasyonunun belirlenmesinde kullanılan nitel verilere dayanan immunohistokimya sonuçlarının sayısal verilere dayanan Real time Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) yöntemi ile validasyonunu gerçekleştirmek ve bu yöntemin immunohistokimyasal çalışma ile gri zonda kalınan dokularda kesin sonuca olan katkısını değerlendirmek amaçlanmıştır.



## **2. Mide Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi**

### **Embriyoloji**

Mide özofagus kaudalindeki “foregut” un fusiform genişlemesi sonucunda oluşur. Bu gelişim ilk kez embriyo 7 mm uzunluğuna ulaştığında başlar. Mide endodermden gelişir; mukozadaki erken glandüler diferansiyasyon fetus 80 mm uzunluğa ulaştığında, enzim ve asit üretimi ise fetal hayatın dördüncü ayında başlar [8].

### **Genel Anatomik Özellikler**

Mide karnın üst sol kısmında yerleşmiş J şeklinde bir organdır. Üst kısımda, diaframın birkaç santimetre yukarısında özofagus ile birleşir. Alt kısmı ise sağa doğru uzanarak duodenum ile birleşir.

Mide anatomik olarak beş bölüme ayrılır: Bunlar kardiya, fundus, korpus, antrum ve pilordur. Midenin superiomedial kenarı küçük kurvatur; inferiolateral kenarı ise büyük kurvatur olarak isimlendirilir. Tübüler özofagusun yerini sakküler mideye bıraktığı nokta gastroözofageal bileşke (GEJ) olarak isimlendirilir ve burası kesici dişlerden itibaren 40 cm düzeyindedir. Kardiya özofagus alt ucunun hemen distalinde yer alan 1-3 santimetre uzunluğunda bir segmenttir. Fundus sol diafragmanın hemen altında yer alan, GEJ'den yukarıda yer alan mide bölümüdür. Antrum pilorik sfinkterin hemen proksimalinde yer alır ve midenin distal 1/3'lük kısmını oluşturur [8]. Kardiya ve antrum midenin proksimali ve distalinde bulunur, benzer histolojik özellikler taşırlar. Ortak histolojik özellik taşıyan diğer iki anatomik bölge fundus ve korpus ise midenin ortasında bulunurlar [9].

### **Kan Dolaşımı**

Midenin kanlanmasını 5 arter sağlar. Sol gastrik arter çölyak trunkusun dalıdır ve midenin ön ve arka bölümünü besler. Sağ gastrik ve sağ

gastroepiploik arterler, hepatic arterin dallarıdır. Sağ gastrik arter küçük kurvaturu, sağ gastroepiploik arter ise büyük kurvaturu besler. Sol gastroepiploik arter ve kısa gastrik arterler splenic arterden ayrılırlar ve mide büyük kurvaturu beslerler. Tüm bu arterler subserozada ve muskularis propriada anastomozlaşır ve submukozada vasküler pleksus oluştururlar [8].

### **Lenfatik Dolaşım**

Midenin mukozasındaki lenfatikler lamina propriadadır. Lamina propriadan muskularis mukozayı penetre ederek submukozadaki daha büyük lenfatik kanallara bağlanırlar [8].

Midenin üst 2/3'ünün lenfatikleri sağ ve sol gastrik lenf nodüllerine, fundusu ve korpusun üst kısmını drene eden lenfatikler pankreatikosplenik lenf nodüllerine, pilorik sfinktere kadar olan kısmı drene eden lenf nodülleri pilorik ve pankreatikoduodenal lenf nodüllerine, pilorun lenfatikleri ise pilorik, gastrik ve hepatic lenf nodüllerine drene olur. Tüm bu lenf düğümlerinin efferentleri çölyak lenf nodüllerine açılır [8].

### **İnnervasyonu**

Midenin parasempatikleri nervus vagustan, sempatikleri çölyak pleksustan köken alır [8]. Parasempatikler gastrik motilite ve sekresyonu artırırken, sempatikler pilorik sfinkteri kapatır ve gastrik motiliteyi inhibe ederler. Midenin subserozal tabakasında gerçek sinir pleksusları bulunmazken submukozada Meissner, muskularis proprianın sirküler ve longitudinal kasları arasında ise myenterik (Auerbach) pleksusları mevcuttur [8].

### **Histoloji**

Mide duvarı dört tabaka şeklinde organize olmuştur: Bunlar mukoza, submukoza, muskularis propria, subserozadır. Midenin luminal yüzeyi mukoza ve submukoza tarafından oluşturulan, mide boş iken belirginleşen 'rugae' adı verilen katlantılar içerir [10]. Antrum ve kardiya daha düz bir

yapıda iken korpus ve fundusta bu kıvrımlanmalar belirgindir. Midede ayrıca 'area gastricea' denilen, mide dolumuyla da kaybolmayan ince oluklanmalar mevcuttur [8].

Normal mide kompleks bir mukoza ile örtülüdür. Anatomik bölgelerine göre mide mukozası üç mikroskopik tipte değerlendirilir: kardiyak, fundik, pilorik. Tüm mide glandları iki tipte major komponent içerir: foveola(kript,pit) ve sekretuar kısım [11]. Epitelin yaptığı küçük yüzey invajinasyonları foveola (pit) olarak adlandırılır. Mukozanın derinine yerleşmiş mide glandları foveolaların tabanına açılır. Mide mukozası ve foveolaları döşeyen epitel tüm mide boyunca benzer özelliklerdedir [12]. Bu epitel uzun, kolumnar, çekirdeği bazale yerleşmiş, mukus sekrete eden hücreler tarafından oluşturulur. Kardiya ve pilorda foveolalar daha derindir; bu mukozaya daha villöz bir görünüm kazandırmaktadır. Foveolalar nötral müsin ile örtülüdür, Periodic acid-Schiff (PAS) boyası ile pozitif, fakat ph 2,5 ve altında Alcian blue boyası ile negatiftir [8].

Gastrointestinal sistemin müköz bariyerini oluşturan viskoelastik özellikte yüksek molekül ağırlıklı müsin proteinleri mevcuttur. Bunlar epitel tarafından eksprese edilen özellikle serin, treonin ve prolinden zengin sıralı tekrarlanan peptid dizilerinden oluşmaktadır. Bu müsin proteinleri ile ilgili bilinen 12 gen mevcuttur. Bu genlerden bazıları kromozom 11p15.5'da yerleşmiş MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6; kromozom 7q22'de yerleşmiş MUC3, MUC11, MUC12'dir. Normal mide mukozası karakteristik olarak MUC1, MUC5AC, MUC6 eksprese etmektedir [13,14]. Foveola epitelindeki hücreler özellikle MUC1 pozitifliği gösterirler.

Kardiyak ve pilorik bezler benzerdir: Foveolalar epitelin üst yarısını, dallanmış mukus sekrete eden glandlar ise alt yarısını doldurmaktadır [11]. Bu iki anatomik bölgedeki mukoza, kardiyak ve pilorik glandlar denilen dallanmış, kıvrımlanmış, tübüler glandları içermektedir. Pilorik kısımda daha uzun gastrik pitler mevcuttur. Her iki bölgede de glandlar bol mukus ve lizozim içeriğine sahiptirler.

Fundus ve korpusta, lamina propria dallanmış ve tübüler yapıda 3-7 tanesi bir gastrik pite açılan gastrik glandlar ile doludur. Her gastrik gland bir istmus, boyun ve tabandan oluşmaktadır. İstmus yüzeye göç eden ve yüzey mukus hücreleri halini alan müköz hücreleri, bazı kök hücreleri, bir miktar paryetal(oksintik) hücreleri; boyun kısmındaki glandlar kök hücreleri, müköz boyun hücreleri ve paryetal hücreleri; tabandaki glandlar ise paryetal hücre ve şef(zimojenik) hücreleri içermektedir. Boyun ve tabandaki glandlarda dağınık halde bir miktar enteroendokrin hücreler mevcuttur [15].

Gastrik glandlardaki bu hücreler midede belli anahtar roller üstlenirler. Hücre tiplerine bakılacak olursa;

Müköz boyun hücreleri; gastrik glandların boyun kısmında paryetal hücrelerin arasında tek tek veya gruplar halinde bulunurlar. Bunlar nükleusu bazale yerleşmiş, apikal kısımlarında bol mukus içeren hücrelerdir. Midenin hemen tüm alanlarındaki glandlarda bulunan müköz boyun hücreleri mukozal rejenerasyon ve proliferasyondan sorumlu hücrelerdir [8,15].

Paryetal hücreler gastrik glandların üst yarısında bulunurlar. Bunlar büyük yuvarlak, poligonal hücrelerdir. Yüksek mitokondri içeriği nedeniyle eosinofilik sitoplazmaları mevcuttur. Paryetal hücreler hidroklorik asit (HCL) ve intrinsink faktör sekrete ederler. Paryetal hücrelerin sekretuar aktivitesi kolinerjik sinir uçları, histamin ve gastrin tarafından stimüle edilir.

şef (zimojenik) hücreler tübüler glandların alt kısımlarında yoğunlaşmıştır. Protein sentezi ve salınımından sorumlu hücrelerdir. Sitoplazmik granülleri inaktif bir enzim olan pepsinojen içermektedir. şef hücrelerinin granülleri ayrıca lipaz enzimi ve leptin hormonu da içermektedir [15].

Enteroendokrin hücreler gastrik glandlarda değişik oranlarda bulunmaktadır. Pilorik mukozadaki endokrin hücrelerin %50'sini gastrin üreten G hücreler, %30'unu serotonin üreten enterokromaffin hücreler, %15'ini somatostatin üreten D hücreler oluşturur. Oksintik mukozadaki endokrin hücrelerin büyük kısmını enterokromaffin hücreler oluşturur. Pilorik

mukozada endokrin hücreler boyun kısmında çoğunlukla bulunurken oksintik mukozada tabana doğru yerleşmişlerdir [8].

Mukozanın diğer iki komponenti lamina propria ve muskularis mukozadır [11]. Yüzey epiteli, foveola ve glandları döşeyen epitel hücreler intestinal traktın diğer alanlarıyla benzerlik göstermektedir. Lamina propria bu epitelyal komponente zengin retikülin lif ağı, kollajen ve elastin lifler ile güçlü yapısal destek sağlamaktadır. Lamina propria ayrıca fibroblastlar, plazma hücreleri, histiyositler, lenfositler içermektedir. Bunun yanında bir miktar nötrofil ve mast hücrelerine rastlanması da normaldir. Kapillerler, arteriyoller ve miyelinlenmemiş sinir lifleri lamina proprianın diğer bileşenleridir [8].

Midenin diğer tabakaları submukoza, muskularis propria ve serozadır. Submukoza elastik liflerden zengin, arterler, venler, lenfatikler ve Meissner sinir pleksusları içeren bir bağ doku yapıdadır. Muskularis propria 3 katmandan oluşur: dışta longitudinal, içte sirküler, en içte ise oblik kas lifleri içermektedir. Auerbach (myenterik) sinir pleksusu longitudinal ve sirküler kas liflerinin arasındadır [11].

### **3. Mide Kanseri**

#### **3.1. Epidemiyoloji**

Mide kanseri, son 50 yılda insidansında belirgin bir düşme olmasına rağmen, hala dünya genelinde kansere bağlı ölümlerde akciğerden sonra ikinci sırayı almaktadır. Dünyada her yıl 800.000 yeni vaka, 650.000 hastalık nedeniyle ölüm bildirilmektedir [16]. Prevalansı ülkeler arasında değişiklik göstermekle birlikte yaklaşık %70 civarındaki olgu gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir [6].

Mide kanseri dünyada görülen kanserlerin %7.8 'ini oluşturur [17]. İnsidansın yüksek olduğu ülkeler Asya, Doğu Avrupa, Güney Amerika iken; insidansın düşük olduğu ülkeler Güney Asya, Kuzey ve Doğu Afrika, Kuzey Amerika, Avustralya ve Yeni Zelanda'dır [3]. İnsidansın yüksek olduğu alanlarda 'intestinal' tip adenokarsinom predominant iken; insidansın düşük

olduğu alanlarda 'diffüz' tip adenokarsinom daha yaygındır. Yüksek insidans alanlarında antrum ve pilor sık görülen anatomik lokalizasyon iken; düşük insidans alanlarında proksimal mide(kardiya) sık görülen anatomik lokalizasyondur [18].

Mide kanseri 30 yaşın altında nadir görülmektedir. İnsidansı genel olarak hem erkek hem kadınlarda yaş ile beraber artmaktadır. Genç hastalarda tümör daha çok herediter ve 'diffüz' tipte olma eğilimindedir. Genç hastalarda kadınlar erkeklerden daha çok etkilenmiştir [18].

### 3.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri

**Sigara:** Sigara kullanımı; düşük lif tüketimi, aşırı tuz kullanımı, helicobakter pilori(H.pilori) enfeksiyonundan sonra mide kanseri riskini en çok artıran çevresel faktörlerdendir [19]. 1997 yılında yapılan bir meta-analitik çalışmada sigara içenlerde hiç içmeyenlere göre %44 artmış mide kanseri görülme riski saptanmıştır [20]. Sigaranın ayrıca cytotoxin associated gene A (CagA)-pozitif H.pilori enfeksiyonunun karsinojenik etkisini potansiyalize ettiği gösterilmiştir [18].

**Diyet:** Diyet alışkanlıkları özellikle 'intestinal tip' olmak üzere artmış mide kanseri riski ile ilişkili olabilmektedir. Aşırı tuz tüketimi, tütülenmiş gıdalar, taze sebze ve meyveden fakir diyet risk oluşturan etmenlerdir. Fazla et tüketimi ve kırmızı et, kardiya dışı mide kanserleri riskini artırmaktadır [18]. Ayrıca diyetle veya destek olarak alınan C vitamininin mide kanseri riskini azaltabileceği vurgulanmaktadır [21].

**Helikobakter pilori enfeksiyonu:** H. Piloni, Gram negatif mikroaerofilik özellikte, spiral bir basildir. Şiddetli gastrit ve kronik atrofik gastritlere neden olup, mide mukozasında kolonize olmaktadır. Mide kanseri gelişiminde önemli bir risk faktörüdür. Epidemiyolojik çalışmalar H.piloni'nin hem intestinal hem diffüz tip mide kanseri riskini artırdığını göstermektedir [1].

H.pilori'nin kolonizasyonu ve patojenitesi ile ilgili faktörler; dış membran proteinleri olan BabA, SabA, OipA, AlpA/B, HomB ve virulans faktörleri olarak bilinen CagA ve VacA'dır [18].

Oksidatif stres H.pilori ile enfekte kişilerde bilinen bir virülans faktörüdür. H.pilori enfeksiyonu reaktif oksijen ve nitrojen derivelerinin oluşumunu indükler ve konağın antioksidan savunma mekanizmalarını baskılayarak DNA hasarına yol açar. H. pilori direkt olarak mutajenik değildir fakat mismatch tamir mekanizmalarına hasar vererek veya inflamatuvar mediatörlerin salınımını sağlayarak mutajenik mekanizmaların oluşumunu desteklemektedir [1].

CagA proteinini üreten H.pilori enfeksiyonları yüksek oranda inflamasyona yol açmakta ve gastrik prekanseröz lezyonlar ile non-kardiya mide karsinomlarının gelişme riskini artırmaktadır. Avrupa ve Kuzey Amerika gibi ülkelerdeki mide kanseri riski VacA genotipi ile ilişkilidir. Bu ilişki Doğu Asya ülkelerinde gözlenmemektedir [18].

### **3.3. Genetik Faktörler**

**Genetik İnstabilite:** Kromozomal instabilite(CIN), sporadik gastrik tümörlerde en sık görülen genetik instabilitedir. Kromozomal instabilite, kromozomal artış veya kayıplar (anoploidi), heterozigosite kaybı (loss of heterozygosity,LOH), amplifikasyonlar, translokasyonlar gibi major kromozom anomalileri ile karakterizedir. Ayrıca, H.pilori enfeksiyonu, sigara, nitrit/nitratlar gibi karsinogenik etkiler de kromozomal stabilite üzerinde olumsuz etki oluşturmaktadır [22]. Genomik hibridizasyon analizleri, özellikle mide karsinomlu genç hastalarda 6p21, 9p34, 11q23, 17p13, 19p13 ve 22q13 gibi kromozom bölgelerinde DNA kopya sayısı ile ilgili varyasyonlar olduğunu göstermektedir [1]. Tsukamoto ve arkadaşları, delesyon bölgelerinde downregülasyona yol açan 11 genin, amplifikasyon bölgelerinde upregülasyona yol açan 114 genin kodlandığı 20q13 kromozom bölgesindeki varyasyonların mide kanserli hastada yüksek oranda görüldüğünü bildirmişlerdir [23].

Mikrosatellit instabilite (MSI), gastrik kanserlerde tanımlanmış bir diğer genomik instabilite tipidir. Yapılan çalışmalar MSI'nin büyük oranda Lynch sendromunun bir komponenti olarak herediter mide tümörlerinde, küçük bir kısmının da sporadik mide tümörlerinde saptandığını göstermektedir. MSI mevcut vakalarda mikrosatellit tekrar bölgelerinde insersiyon veya delesyonlar mevcuttur. Bu hatalar kompleks mismatch tamir proteinleri (MMR) tarafından düzeltilir. Bu MMR proteinlerindeki (özellikle MLH1 ve MSH2) inaktivasyon veya defektler MSI fenotipinin oluşmasına yol açar. MLH1 promotor bölgelerinin epigenetik olarak hipermetilasyonu, %50'den fazla MSI-H pozitif mide kanserinin oluşmasına yol açar. MLH1 ve MSH2'deki mutasyonlar MSI-H fenotipindeki mide kanserli hastalarda %12-15 oranında görülmektedir [22].

**Heterozigosite Kaybı:** Tümör supresör genlerdeki en önemli mutasyonlardan biri heterozigosite kaybıdır. p53 geninin fonksiyonları heterozigosite kayıpları veya DNA hipermetilasyonları sonucu değiştirilir [25]. p53 genindeki mutasyonlar, mide kanserini de içeren insan kanserlerinde en sık rastlanan genetik değişikliklerdendir. Bazı çalışmalar p53 genindeki mutasyonların intestinal tip mide adenokarsinomlarına yol açtığı görüşünü desteklese de başka çalışmalarda intestinal ve diffüz tip adenokarsinom görülme oranlarının benzer olduğunu belirtmektedir. p53 geni ile ilgili yapılan bir takım çalışmalarda da bu gendeki mutasyonların biyolojik olarak kötü davranış, metastatik yayılım, lenf nodu metastazı, kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğunu gösterilmektedir [24].

5q kromozomuna lokalize APC genindeki somatik mutasyonlar da intestinal tip mide adenokarsinomlarının %50'sinde izlenir. APC genindeki inaktivasyon bilinen bir onkogen olan  $\beta$ -katenin'in ekspresyonunu artırmaktadır [24].

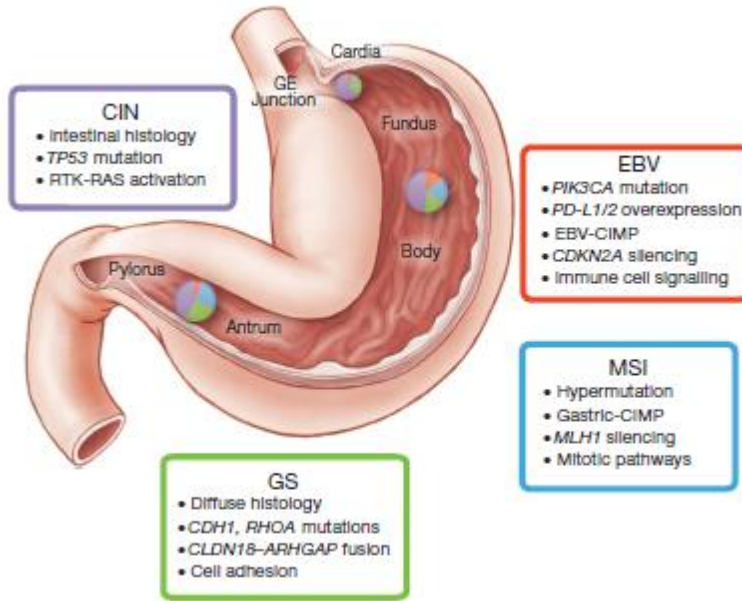
**Telomeraz Aktivasyonu:** Telomerler kromozomların çoğalması ve yapısının korunmasında önemli görevleri olan özelleşmiş (TTAGGG) nükleotid tekrarlarıdır. Ökaryot kromozomlarının sonlarında bulunurlar ve her hücre siklusundan sonra kısalırlar. Germline hücreler replikasyon



problemini telomeraz enzimi eksprese ederek çözerler. Telomeraz aktivasyonuna mide kanserlerinin % 85' inde saptanır. Telomeraz aktivitesi saptanan mide kanserli hastaların % 80'i, erken evre mide kanserli hastalardır [25].

### 3.4. Moleküler Özellikler

Son yapılan çalışmalara göre yeni nesil sekanslama ile belli kanser tiplerindeki potansiyel kanser oluşum genleri belirlenebilmektedir [27]. Bu çalışmalar primer mide adenokarsinomlarının dört farklı moleküler subtipe ayrıldığını göstermektedir: Bunlar 1)Epstein-Barr virüs (EBV)-pozitif tümörler, 2)Mikrosatellit instabil (MSI) tümörler, 3)Genomik stabil (GS) tümörler, 4)Kromozomal instabil (CIN) tümörleri içeren subtiplerdir.



Şekil 1: Mide kanserinin moleküler özellikleri [27]

**Epstein-Barr Virüs (EBV)-Pozitif Tümörler:** EBV ile ilişkili mide kanserleri, tüm mide kanserlerinin %9'unu oluşturmaktadır. EBV ile ilişkili mide kanserleri, bazı klinik özelliklere sahiptir; erkek predominansı, rölatif olarak genç yaş ve proksimal mide yerleşimi bunlardan bazılarıdır [26,28]. Moleküler

olarak EBV ile ilişkili gastrik kanserler, Fosfatidilinositol-4,5-Bifosfat 3-Kinaz Katalitik Subünit Alfa (PIK3CA) mutasyonu, bunun yanı sıra Janus Kinaz 2 (JAK2), Programmed Death Receptor Ligand-1 (PD-L1), Programmed Death Receptor Ligand-2 (PD-L2) genlerinde hipermetilasyon ve upregülasyon göstermektedir [28]. EBV pozitif tümörler, diğer tümörlere göre artmış DNA hipermetilasyonu gösterirler [27]. Diğer gastrik kanserlere göre EBV pozitif tümörlerde tüm genom boyunca olabilen CpG ada metilasyonları daha sıktır. Tüm EBV pozitif tümörler Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör 2A (CDKN2A) promotör hipermetilasyonları göstermektedir [27]. Bunun yanında EBV ile MSI metilasyon patternleri de belirgindir. EBV pozitif tümörler CDKN2A hipermetilasyonları gösterirken, MLH1 hipermetilasyonu bu tümörlerde gözlenmez.

EBV pozitif gastrik tümörlerde PIK3CA ve AT-Rich İnteraction Domain 1A (ARID1A) genlerinde olduğu gibi somatik mutasyonlar sıklıkla gözlenir. EBV ile ilişkili gastrik tümörlerde en sık görülen genetik değişiklikler tekrarlayan PIK3CA mutasyonlarıdır. EBV ile ilişkili gastrik tümörlerde PIK3CA mutasyonları neredeyse % 80 oranında gözlenir, %68 vakada tekrar eden mutasyonlar mevcuttur. Diğer gastrik tümörlerde ise PIK3CA mutasyonları %3 ile %42 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir [28].

Programmed Death 1 (PD-1) T hücre aktivasyonunda inhibitör sinyal sağlayan bir moleküldür. PD-1 için her ikisi de B7 ailesine ait olan iki binding ligand tanımlanmıştır (PD-L1 diğer adıyla B7-H1 ve PD-L2). Yapılan çalışmalarda PD-L1 'in dendritik hücreler ve çeşitli tümör hücrelerinde eksprese edildiği bildirilmiştir [29]. Artmış PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonu EBV ile ilişkili gastrik tümörlerde de gösterilmektedir [28].

Janus kinaz 2 (JAK2), Janus non-reseptör sitoplazmik tirozin kinaz ailesinin bir üyesidir ve Janus kinase (JAK) / signal transducer and activator of transcription (STAT) sinyal yolunu oluşturur. JAK/STAT sinyal yolağı, hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonu için gerekli birçok sitokinin salınmasını düzenler. JAK2'nin downregülasyonu gastrik kansere ait

hücrelerin supresyonuna yol açmaktadır. H.pilori CagA proteini de JAK2 sinyal yolağını kullanarak gastrik karsinogeneze katkı sağlar [30].

**Mikrosatellit İnstabil (MSI) Tümörler:** Mikrosatellit instabilite, DNA mismatch tamir genlerinde (MMR) genetik veya epigenetik inaktivasyon sonucu oluşan bir genetik değişikliktir [30]. MSI-H kanserler herediter ve sporadik orjinlerinden bağımsız olarak, MSI-L veya MSS olan tümörlere göre farklı klinikopatolojik ve moleküler karakteristikler sergilerler. Gastrik kanserlerde birçok çalışma MSI tümörlerin daha çok intestinal tipte olduğu ve daha az sıklıkla lenf nodülü metastazı yaptığını göstermektedir [31]. The Cancer Genome Atlas (TCGA) çalışmasına göre MSI tümörler daha çok yaşlı ve kadın hastalarda görülmektedir [30]. MSI subtipi ve EBV ile ilişkili gastrik kanserlerin daha iyi prognoza sahip olduğu çalışmalarda gösterilmektedir [28].

MSI pozitif gastrik kanserler sıklıkla Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)- Mitogen-Activated Protein Kinase(MAPK) ve Fosfainositid 3-Kinaz (PI3K) yolaklarında aktivasyon gösterirler. EGFR 3'-UTR ve PIK3CA mutasyonlarının sıklıkla MSI fenotipiyle ilişkili olduğu literatürde bildirilmektedir [30].

**HER-2/neu (c-erbB2):** HER-2/neu (c-erbB2) geni 17. kromozomun kısa kolunda yerleşmiş, transmembran tirozin kinaz reseptör proteini kodlayan HER ailesinin üyesi olan bir gendir [32]. HER-2 amplifikasyonu ilk kez 1985 yılında meme kanseri hücre hatlarında saptanmıştır. Bundan bir sene sonra ise mide ve gastroözofageal kanser hücre hatlarında gösterilmiştir [33]. HER-2 gen ailesi dört üyeden meydana gelir: HER-1 (diğer adıyla EGFR), HER-2, HER-3 (diğer adıyla ErbB-3), HER-4(diğer adıyla ErbB-4) [34,35]. Bu reseptörler ortak moleküler yapılanma gösterirler: ligandın bağlandığı ekstrasellüler parça, kısa bir transmembran kısım ve tirozin kinaz aktivitesi olan intrasellüler bir kısım. Bu ekstrasellüler parçaya bağlanan değişik ligandlar hücre proliferasyonu, apoptoz, adezyon, migrasyon, diferansiyasyon gibi tümör hücre biyolojisini etkileyen sinyal kaskadlarını başlatır [35]. HER-2, hücre proliferasyonunu RAS-MAPK yolağı üzerinden

sağlar ve hücre ölümünü fosfotidilinositol 3' kinaz-AKT-mammalian target of rapamycin (mTOR) yolağı üzerinden engeller. HER-2 ile ilişkili hücre proliferasyonu ilk kez rat nöroblastomunda gösterilmiştir [36].

Son yapılan çalışmalarda HER-2'nin çeşitli insan kanserlerinin gelişiminde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Meme kanserlerinde %10-34 oranında gözlenen HER-2 amplifikasyonunun klinik gidiş, kötü prognoz, kemoterapi ve endokrin tedaviye kötü cevap ile ilişkili olduğu saptanmıştır. HER-2 overekspresyonu/amplifikasyonu ayrıca kolon, mesane, over, endometrium, akciğer, serviks, baş-boyun, özofagus ve gastrik kanserlerde gözlenmektedir [34].

Trastuzumab, HER-2 reseptörüne karşı geliştirilmiş insan IgG1 monoklonal antikorudur. HER-2 reseptör dimerizasyonuna engel olmak ve bunun sonucu olarak HER-2 sinyalizasyonunu azaltmak, reseptör destrüksiyonu, G1 faz duraklaması, intrasellüler yolakların inhibisyonu gibi birçok mekanizma yoluyla etki eder. Yapılan çalışmalarda Trastuzumab'ın HER-2 overekspresyonu izlenen mide kanserli vakalarda beklenen yaşam süresinde belirgin olumlu etkisi olduğu gösterilmektedir [33].

**Genomik Stabil Tümörler:** Genomik stabil gruptaki tümörler, mikrosatellit stabil ve EBV ile ilişkisiz olup, az oranda kromozomal instabilite ve somatik mutasyonlar göstermekte fakat daha yüksek oranda CpG ada metilasyonları göstermektedir. Genomik stabil tümörler daha çok diffüz tipte kanserlerdir. İntestinal tipte tümörler ise yüksek kromozomal instabilite gösterirler.

TCGA araştırmalarına göre Ras Homolog Gene Family Member A (RHOA) ve Cadherin 1(CDH1) mutasyonları ve Claudin 18(CLDN18)-Rho GTPaz aktive eden protein 6(ARHGAP6) veya Rho GTPaz aktive eden protein 26 (ARHGAP26) füzyonu genomik stabil subtipinde sık görülür [30].

CDH1 Mutasyonları: CDH1 nadir görülen bir germline mutasyondur ve herediter diffüz tip mide kanserine yol açan temel nedenlerden biridir. İntestinal tip mide kanseri preneoplastik basamakların sistemik progresyonu

sonrasında görülürken diffüz tip mide kanseri CDH1'in downregülasyonu sonucu de novo izlenir [30].

RHOA Mutasyonu: Diffüz tip mide kanserlerinin gelişiminde tekrarlayan RHOA mutasyonları izlenir, bu mutasyonlar diffüz mide kanseri progresyonunda onkojenik sürücüler olarak rol oynarlar.

CLDN18-ARHGAP26 füzyonu: Rho GTPaz aktive edici protein 26 (ARHGAP26), RhoA ve GDP gibi küçük G proteinlerini GDP bağlı inaktif formlarına dönüştüren bir regülatör proteindir.

CLDN18, claudin gen ailesinin bir üyesidir. Claudin ailesi üyelerinin ekspresyon kaybı, hücre invazyonuna ve gastrointestinal kanserler de dahil olmak üzere malign tümör metastazına yol açar [30].

**Kromozomal İnstabilite ile İlişkili Tümörler:** Kromozomal instabilite(CIN) alt grubundaki tümörler genellikle gastroözofageal bileşke veya kardiya lokalizasyonunda görülür. TCGA çalışmaları da dahil olmak üzere son yapılan çalışmalarda p53 mutasyonlarının kromozomal instabilite ve demetilasyon ile ilişkili olduğu, CpG ada metilasyonlarının ise kromozomal instabilite ile ilişkisiz oldukları gösterilmiştir. CIN alt tipinde HER-2, EGFR, vascular endothelial growth factor receptor(VEGFR), c-MET, fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) gibi bazı moleküller tedavi hedeflerini oluşturmaktadır. Bunların arasında HER-2 mide kanserlerinde onaylı tek biyobelirteçtir ve HER-2 pozitif ileri evre mide kanserlerinde Trastuzumab onaylı bir hedef ilaçtır. Kromozomal instabilite subtipi ve de özellikle HER-2 pozitifliği intestinal gastrik kanserler ile ilişkilidir. EGFR mutasyonları gastrik kanserlerde nadirdir, amplifikasyonu ve overekspresyonları ise orta sıklıkta bildirilmektedir. Mutasyonu, amplifikasyonu ve overekspresyonundan fazla olan bir diğer gen olan c-MET; reseptör tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Böylelikle hücre proliferasyonuna ve antiapoptotik sinyallerin oluşmasına yol açabilir [30].

### 3.5. Predispozan Faktörler

**Kronik Atrofik Gastritis:** H.pilori ile persistan enfeksiyon içeren kronik gastrit, mukozal atrofi, fokal intestinal metaplazi ve displazi gibi bazı fenotipik değişikliklere yol açmaktadır.Yüksek riskli bölgelerde H.pilori ile ilişkili kronik gastritler zaman içerisinde atrofi ve intestinal metaplazi gelişimine neden olur. Bu durum da özellikle 'intestinal' tip adenokarsinomun gelişimine yol açar [18].

Otoimmün gastrit, fundik mukozadaki paryetal ve şef hücrelerine karşı otoantikör gelişimiyle ortaya çıkan bir durumdur. Bu da intestinal metaplazi ve özellikle intestinal tip olmak üzere artmış mide kanseri riski ile ilişkilidir [18].

**İntestinal Metaplazi:** İntestinal metaplazinin iki tipi mevcuttur: Bunlar komplet (Tip1) ve inkomplet (Tip IIA/II ve IIB/III) tiptir. Komplet tip metaplazide 'gastrik' müsinlerde azalma (MUC1, MUC5AC, MUC6) ve intestinal müsinde (MUC2) ise ekspresyon izlenir. İnkomplet intestinal metaplazide ise gastrik müsinler ile beraber MUC2'nin koekspresyonu izlenir. Bu ekspresyon patterni inkomplet intestinal metaplazinin mikst gastrik ve intestinal fenotipte olduğunu göstermektedir. Bazı çalışmalar inkomplet intestinal metaplazi ile karsinom arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Bazı yazarlar da intestinal metaplazinin prekanseröz bir lezyon olmadığını ancak karsinoma eşlik edebildiğini belirtmektedir [18].

**Gastrik Ülser:** İntestinalize olmuş gastrik mukoza, koruyucu müköz bariyerini kaybeder. Bu da peptik ülserasyona daha açık hale gelmesini sağlar. Gastrik ülserli hastalar, artmış mide kanseri riskiyle karşı karşıyadır. Mide ülseri ve mide kanserinin ortak risk faktörleri taşıması da şaşırtıcı değildir: HP gastriti, tuzdan zengin beslenme, sigara gibi [37].

### 3.6. Premalign Lezyonlar

**İntraepitelyal Neoplazi (Displazi):** Bu lezyonlar, bazal membranı aşmayan, değişik sellüler ve yapısal atipi gösteren epitelyal neoplastik proliferasyonlardır. İntraepitelyal neoplazileri kategorize etmek konusunda Japon ve Avrupa/Kuzey Amerika patoloğları arasında belirgin farklılıklar vardır. Avrupa/Kuzey Amerika patoloğlarının 'yüksek grade intraepitelyal

neoplazi' olarak nitelendirdiği lezyonlar, Japon patoloğlara göre 'noninvaziv intramukozal karsinom' olarak adlandırılmaktadır.

İntraepitelyal neoplaziler polipoid, flat ya da hafifçe deprese olabilir. Avrupa ve Kuzey Amerika'da 'adenom' terimi; neoplastik lezyon çevreden ayrı, protrüde ise kullanılır. Japonya'da ise adenomlar tüm büyüme patternlerinde (flat, eleve, deprese) görülebilir.

Midede intraepitelyal neoplazili bazı olgular intestinal fenotip göstermektedir (adenomatöz, tip 1). Bunlar kolon adenomlarına benzeyen, hiperkromatik ve/veya pleomorfik nükleuslu, nükleolü belirsiz, müsin içeren atipik kolumnar epitel ile döşeli bir araya gelmiş tübüler glandlardan oluşmaktadırlar. Bazı olgular da gastrik fenotip göstermektedir (foveolar ya da pilorik fenotip, tip2). Gastrik fenotipte hücreler yuvarlak-oval nükleuslu, berrak ya da eosinofilik stoplazmalı, küboidal veya kolumnar hücrelerdir. Bu iki displazi tipi birbirinden müsin, CD10 ve CDX2 ekspresyon farklılıkları ile ayrılabilir. İntestinal/adenomatöz displazi tipi MUC2, CD10, CDX2 eksprese ederken gastrik/foveolar tip MUC5AC eksprese eder, CD10 kaybı mevcuttur, CDX2 ekspresyonu ise düşüktür [18].

**Düşük Dereceli İntraepitelyal Neoplazi (Displazi):** Minimal yapısal değişiklikler ve hafif-orta sitolojik atipi göstermektedir. Nükleus uzamış, polarize, bazale yerleşmiştir. Mitotik aktivite hafif ve orta düzeydedir. Polipoid lezyonlar için 'düşük dereceli adenom' terimi kullanılmaktadır [18].

**Yüksek Dereceli İntraepitelyal Neoplazi (Displazi):** Neoplastik hücreler genellikle küboidal, nadir olarak da kolumnar yapıdadır. Nükleus stoplazma oranları yüksektir, nükleol belirginliği ve çok sayıda mitoz izlenir. Polipoid lezyonlar için 'yüksek dereceli adenom' terimi kullanılmaktadır [18].

**İntramukozal İnvaziv Neoplazi /İntramukozal Karsinom:** Bu terim lamina propriayı invaze eden karsinomlar için kullanılır. Bu lezyonlar desmoplastik değişiklikler, belirgin yapısal anomaliler, glandüler kalabalıklaşma, dallanma, tomurcuklanma göstermesi nedeni ile displaziden ayrılırlar. İntroluminal nekrotik debriler yaygın izlenirler. Desmoplazi

olmaksızın lamina propriada tek infiltratif hücreler izlenebilir. Neoplastik hücreler artmış nükleus/stoplazma oranına sahip küboidal hücrelerdir. Belirgin nükleol ve yuvarlak nükleus mevcuttur. Mitozlar sıktır, atipik mitozla rastlanır. İntramukozal karsinomda artmış lenfatik invazyon ve lenf nodu metastazı riski mevcuttur [18].

**Adenomatöz Polipler:** Adenomatöz polipler, genellikle intestinal tip diferansiyasyon gösterirler (absortif hücreler, goblet hücreleri, endokrin hücreler, Paneth hücreleri). Bunlar MUC2, CD10 gibi intestinal belirteçler eksprese ederken MUC5AC, MUC6 gibi gastrik münler ile negatiftirler. Malign transformasyon riski boyut (>2cm) ve yüksek dereceli displazi varlığı ile ilişkilidir.

Gastrik tip adenomalar pilorik gland adenomları ve foveolar tip adenomları kapsamaktadır. Pilorik gland adenomları tek sıralı küboidal veya kolumnar epitel ile döşeli sıkıca paketlenmiş pilorik tipte glandlardan oluşan nadir bir gastrik epitelyal neoplazmdir. Foveolar tip adenomlar ise familial adenomatöz polipozisli (FAP) hastalarda daha yaygındır ve predominant olarak MUC5AC eksprese ederler [18].

**Fundik Gland Polipleri:** Sporadik olarak FAP'lı hastalarda veya proton pompa inhibitörü kullananlarda komplikasyon olarak görülürler. FAP ile ilişkili polipler biallelik APC mutasyonları gösterirken diğer sporadik vakalar  $\beta$  katenin mutasyonları gösterirler. Fundik gland polipleri tek ya da multipl olabilen oksintik mukozadan gelişen sesil poliplerdir. Bu polipler kistik dilate, deforme oksintik glandlar içerirler. Glandüler proliferasyonlar eşlik edebilir [35]. FAP'lı hastalarda fundik gland poliplerinde displazi gelişebilir fakat karsinom oldukça nadirdir [18].

**Non-neoplastik Polipler:** Hiperplastik polipler, hamartamatöz polipler (Peutz Jeghers polibi, juvenil polip, Cronkhite-Canada sendromu ile ilişkili polip) ve polipoid büyüme patternli çeşitli lezyonları kapsamaktadır.

Hiperplastik polipler: Hiperplastik polipler H.Pilori enfeksiyonları veya otoimmün gastrit zemininde ya da ülser, stoma çevrelerinde gelişir. Ayrıca



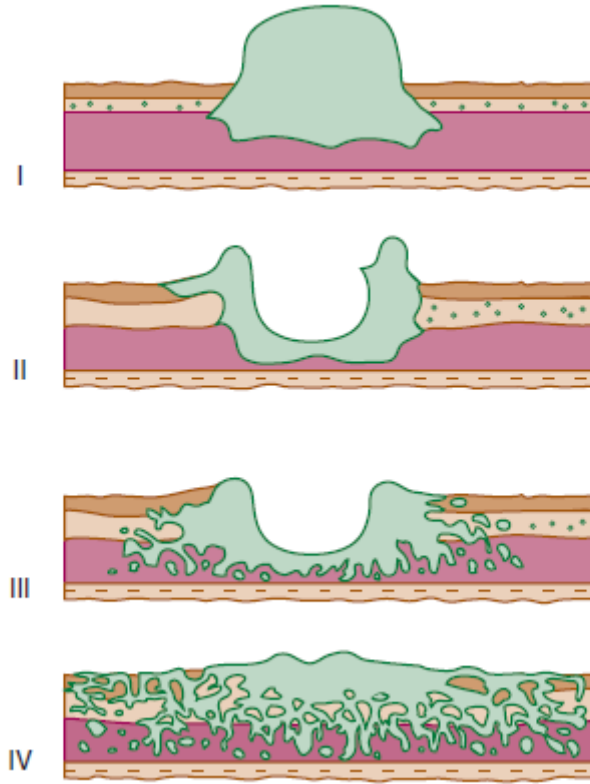
kronik gastroözofageal reflülü hastalarda proksimal midede gelişirler. Çoğu mide korpusu ve antrumdan köken alır. Bunlar genelde 2 santimetreyi geçmeyen küçük, sesil poliplerdir. Daha büyük olan saplı polipler ise yüzeysel erozyonlar içerebilir [36]. Malign transformasyon nadir de olsa bildirilmiştir [18].

Polipozis Sendromları: Peutz-Jeghers polibi, juvenil polipler ve Cowden polipleri genellikle sporadik değil herediter polipozis sendromlarının parçası olarak izlenirler. Gastrik Peutz-Jeghers poliplerinde histolojik olarak foveolar epitelde hiperplazi, elongasyon, kistik değişiklikler izlenir. Buna dallanmış düz kas lifleri eşlik eder [18].

### **3.7. Makroskopik Özellikler**

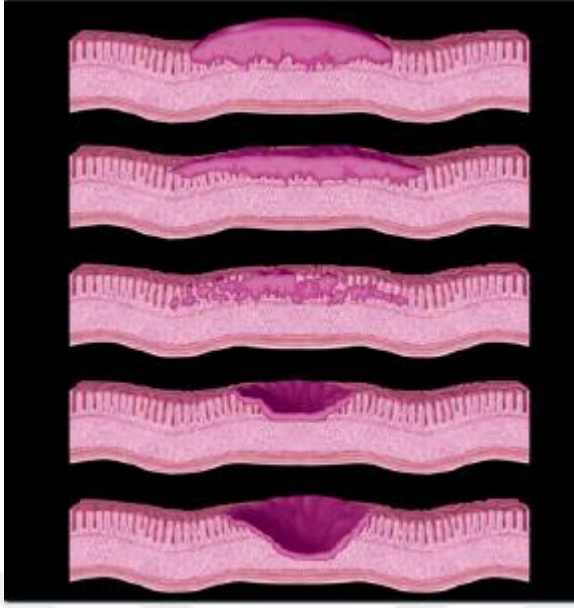
Kardiya kökenli olmayan gastrik kanserler en yaygın olarak antro-pilorik bölgede izlenirler. Antrum lokalizasyonu tüm dünyada mide tümörlerinin en sık görüldüğü lokalizasyondur. Kardiya tümörleri ise daha çok Kuzey Amerika ve Avrupa toplumlarında bildirilmiştir. Korpus kökenli mide tümörleri ise tipik olarak mide küçük ve büyük kurvatur çevresine yerleşme eğilimindedir [18].

Noninvaziv neoplaziler, intraepitelyal neoplazi ve displaziler konvansiyonel endoskopilerde tanınma zorluğu barındıran flat lezyonlardır. Bu lezyonlar eğer polipoid büyüme patterni gösterirse veya mukozada renk farklılığı oluşturan deprese lezyonlar şeklinde ise endoskopik olarak saptanabilirler. Erken mide karsinomları için kullanılan makroskopik kriterler endoskopik tanımlama için kullanılan kriterler ile benzerdir (Şekil 3). İleri evre mide karsinomlarının makroskopik görünümü Bormann klasifikasyonuna göre tanımlanır (Şekil 2). Fungatif ve ülseratif tipler yaygındır. İnfiltratif (tip 4) tümörler ülserasyonun eşlik edebildiği flat, plak benzeri lezyonlar şeklinde yüzeysel yayılırlar. Yaygın infiltratif yayılım sonucunda linitis plastika gelişebilir. [19].



**Şekil 2:** İleri evre mide kanserlerinde makroskopik Borrmann klasifikasyonu [16]

Erken mide karsinomlarının makroskopik sınıflaması biraz daha farklıdır: Tipl polipoid, tiplIA eleve, tiplIB flat, tiplIC deprese, tiplIII ekskave olmak üzere 5 gruba ayrılmaktadır.



**Şekil 3:** Erken mide kanseri makroskopik sınıflaması [38]

**3.8. Tümör Yayılımı ve Evreleme:** Mide karsinomları çevre dokulara metastaz yolu ile veya peritoneal yayılım yolu ile yayılabilir. 'İntestinal' tipte karsinomlar genelde karaciğere hematojen metastaz yolunu tercih ederken zayıf koheziv hücreler içeren (diffüz tip) karsinomlar peritoneal yüzeylere metastaz yolu ile yayılırlar. Antro-pilorik bölgeden kaynaklanan diffüz kanserlerde seroza invazyonu, lenfovasküler invazyon ve lenf nodu metastazı riski fazladır. Ayrıca bu tümörler submukozal lenfatikler aracılığıyla duodenumu invaze edebilir.

Transperitoneal veya hematojen yayılım yolu ile bilateral over tutulumları görülebilir (Krukenberg tümörü) [18].

#### **TNM Evrelemesi:**

##### **T-Primer tümör**

Tx: Primer tümör belirlenemiyor

T0: Primer tümör için kanıt yok

Tis: Karsinoma in situ (yüksek dereceli displaziyi de içeren): lamina propriayı invaze etmeyen intraepitelyal tümör

T1: Tümör lamina propria, muskularis mukoza ya da submukozaya infiltre

T1a: Tümör lamina propriaya infiltre

T1b: Tümör submukozaya infiltre

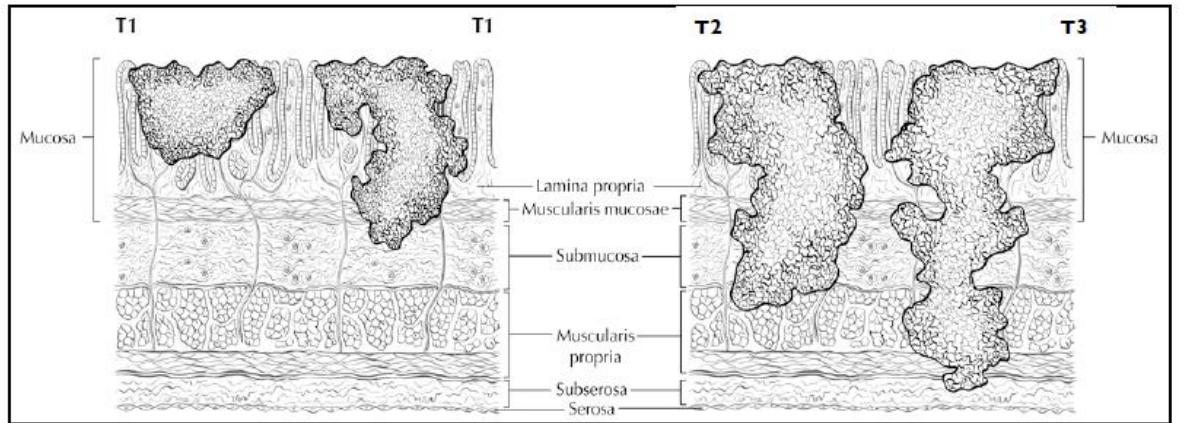
T2: Tümör muskularis propriaya infiltre

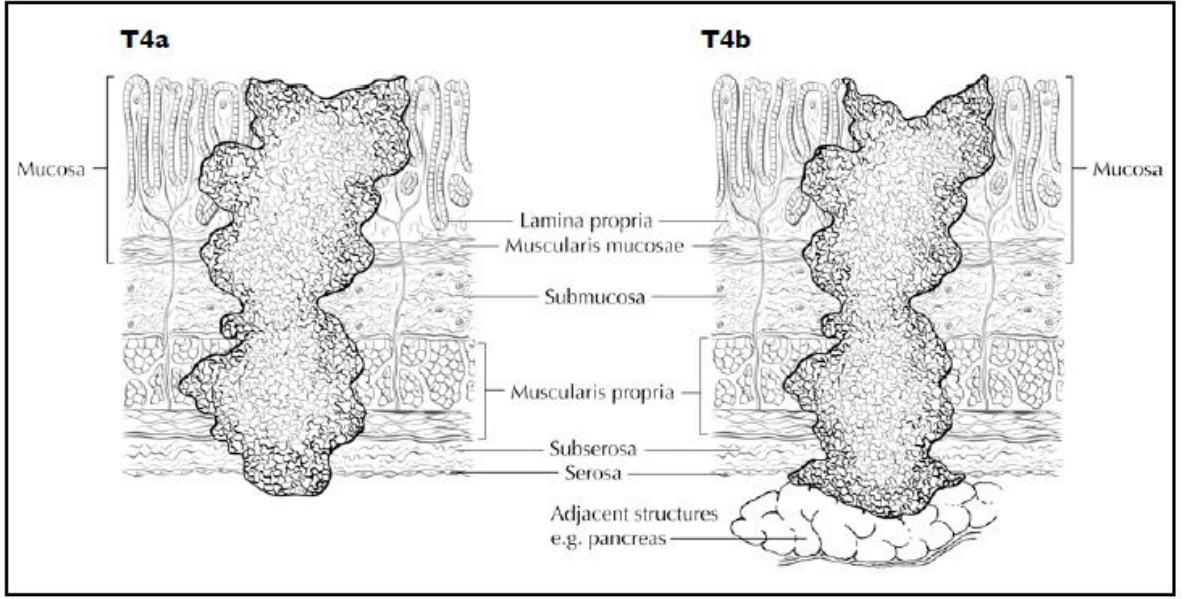
T3: Tümör visseral periton ve çevre yapılara invazyon göstermeden subserozal bağ dokuya penetre

T4: Tümör serozaya (visseral periton) veya çevre yapılara infiltre

T4a: Tümör serozaya (visseral periton) infiltre

T4b: Tümör çevre yapılara infiltre





**Şekil 4:** The American Joint Committee on Cancer (the 8th edition) (AJCC)'e göre TNM evrelemesi [39]

### **N-Bölgesel Lenf Nodülleri**

Nx: Bölgesel lenf nodülleri belirlenemiyor

N0: Bölgesel lenf nodülü metastazı yok

N1: 1-2 perigastrik lenf nodülünde metastaz mevcut

N2: 3-6 perigastrik lenf nodülünde metastaz mevcut

N3: 6'dan fazla lenf nodülünde metastaz mevcut

N3a: Bölgesel lenf nodüllerinin 7-15'inde metastaz varlığı

N3b: Bölgesel lenf nodüllerinin 16 veya daha fazlasında metastaz varlığı

### **M-Uzak metastaz**

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz mevcut

## Evre Grupları

Tablo 1: Mide karsinomlarında evreleme [18]

<b>Evre 0</b>	Tis	N0	M0
<b>Evre IA</b>	T1	N0	M0
<b>Evre IB</b>	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
<b>Evre IIA</b>	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
<b>Evre IIB</b>	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
<b>Evre IIIA</b>	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
<b>Evre IIIB</b>	T4b	N0/N1	M0
	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
<b>Evre IIIC</b>	T4b	N2/N3	M0
	T4a	N3	M0
<b>Evre IV</b>	Herhangi T	Herhangi N	M1

### 3.9. Histopatoloji

Mide kanserlerinin heterojenite göstermesi nedeniyle çok çeşitli sınıflandırma şemaları mevcuttur. Bunlardan en sık kullanılanları World Health Organization(WHO) ve Lauren sınıflamaları olsa da Ming, Nakamura, Mulligan, Goseki ve Carneiro' da diğer önerilen sınıflamalardandır [18].

#### 3.9.1. WHO Sınıflaması:

Tablo 2: WHO 2010'a Göre Mide Karsinomları Sınıflaması [18]

#### Premalign Lezyonlar

Adenom

İntraepitelyal neoplazi (displazi), düşük dereceli

İntraepitelyal neoplazi (displazi), yüksek dereceli

### **Adenokarsinom**

Papiller adenokarsinom

Tübüler adenokarsinom

Müsinöz adenokarsinom

Zayıf koheziv karsinom (taşlı yüzük hücre ve diğer varyantları içeren)

Mikst adenokarsinom

### **Adenoskuamöz karsinom**

**Lenfoid stroma içeren karsinom (medüller karsinom)**

**Hepatoid karsinom**

**Skumöz hücreli karsinom**

**Andiferansiye karsinom**

**Tübüler Adenokarsinom:** Tübüler adenokarsinomlar değişken boyutlarda dilate veya yarık benzeri dallanan tübüllerden meydana gelir. Asiner yapılanmalar izlenebilir. Neoplastik hücreler kolumnar, küboidal veya lümen içi müsin varlığı nedeniyle düzleşmiş olabilir. Nükleer atipinin derecesi düşükten yüksek dereceye değişkenlik gösterebilir. Tübüler adenokarsinomun bazen solid karsinom olarak da anılan az diferansiye bir varyantı da mevcuttur. Belirgin lenfoid stromalı tümörler bazen lenfoid stroma içeren karsinom, medüller karsinom ya da lenfoepitelyoma benzeri karsinom olarak isimlendirilir. Desmoplazi derecesi ise değişkendir [18].

**Papiller Adenokarsinom:** Fibrovasküler bağ doku korlar ile desteklenmiş silindirik ya da küboidal epitel ile döşeli parmak benzeri ekzofitik çıkıntılardan

oluşan iyi diferansiye bir tümördür. Bazı tümörler tübüler diferansiyasyon (papillotübüler) sergileyebilirler. Nadir olarak mikropapiller yapılanma mevcut olabilir. Sellüler atipi ve mitotik aktivitenin derecesi değişkendir. Tümör akut veya kronik inflamatuvar hücreler ile infiltre olabilir [18].

**Müsinöz Adenokarsinom:** Tümör malign epitel ve ekstrasellüler müsin gölcüklerinden oluşur. Kural olarak tümör % 50'den fazla ekstrasellüler müsin içermelidir. Müsinöz adenokarsinomlar dağınık taşlı yüzük hücreleri içerebilirler [18].

**Zayıf Koheziv Karsinomlar (Taşlı yüzük hücreli karsinom ve diğer varyantları içeren):** Zayıf koheziv karsinomlar izole ya da küçük yığınlar halinde dizelenmiş neoplastik hücrelerden oluşur. Taşlı yüzük hücreli tip büyük çoğunluğu santralinde globoid müsin damlacığı içeren nükleusun kenara itildiği taşlı yüzük hücrelerinden oluşan bir tümördür. Malign taşlı yüzük hücreleri mukozada mikropapiller veya dantel şeklinde glandüler yapılanmalar oluşturabilir. Daha derinlerde ise belirgin desmoplaziye yol açabilir.

Zayıf koheziv karsinomun diğer varyantları histiyosit veya lenfosit benzeri neoplastik hücreleri, eosinofilik stoplazmalı hücreleri, bazıları irregüler bizar nükleuslara sahip hücreleri içerecek şekilde karşımıza çıkabilir [18].

**Mikst Karsinomlar:** Bu karsinomlar morfolojik olarak ayırt edilebilen glandüler (tübüler/papiller) ve taşlı yüzük/zayıf koheziv hücreli histolojik komponentlerin bir karışımından oluşurlar. Saptanan farklı histolojik komponent prognoz açısından bilgi vereceği için mutlaka raporlanmalıdır. Taşlı yüzük/zayıf koheziv hücreli karsinomlar kötü prognoz ile ilişkilidir [18].

**Nadir Histolojik Varyantlar:** Nadir histolojik varyantlar mide tümörlerinin %5'ini oluşturmaktadır. Bunlar arasında adenoskuamöz karsinom, skuamöz hücreli karsinom, hepatoid adenokarsinom, lenfoid stromalı(medüller) karsinom, koryokarsinom, karsinosarkom, paryetal hücreli karsinom, malign rabdoid tümör, mukoeypidermoid karsinom, Paneth hücreli karsinom, andiferansiye karsinom, mikst adeno-nöroendokrin karsinom, endodermal



sinüs tümörü, embriyonel karsinom, gastrik yolk sak tümörü ve onkositik adenokarsinom sayılabilir [18].

**Hepatoid Adenokarsinom:** Hepatoid adenokarsinom geniş, poligonal, eosinofilik hepatosit benzeri neoplastik hücrelerden oluşan bir tümördür.  $\alpha$ -Fetoprotein (AFP) in situ olarak dokuda veya serumda saptanabilir. Safra ve periodic acid-Schiff (PAS) pozitif, diastaza dirençli intrastoplazmik eosinofilik globüller gözlenebilir. Diğer nadir AFP üreten karsinomlar berrak stoplazmalı papiller veya tübüler adenokarsinomlar ve yolk-sak tümörü benzeri karsinomlardır [18].

**Lenfoid Stromalı Gastrik Karsinom:** Lenfoepitelyoma benzeri karsinom veya medüller karsinom olarak da anılan bu tümör stromada belirgin lenfoid infiltrasyonun eşlik ettiği düzensiz glandüler yapılanmalardan oluşur. Bu tümörler genellikle midenin proksimalinde yerleşmektedir. Erkeklerde daha fazla izlenmektedir. %80'inden fazlası EBV ile ilişkilidir. Tipik mide kanserine göre bu vakalarda prognoz daha iyi bildirilmektedir [18].

**Gastrik Koryokarsinom:** Gastrik koryokarsinomlar adenokarsinom ile karışık bir halde sitotrofoblast ve sinsiyo-trofoblastları içermektedir. Yolk-sak ve hepatoid komponentler eşlik edebilir. Human koryonik gonadotropin serumda ve kanda tespit edilebilir. Bu tümörler sıklıkla hematojen yayılım ve nodal metastaz ile ilişkilidir [18].

### 3.9.2. Lauren Sınıflaması

Lauren sınıflamasında tümörler diffüz, intestinal, mikst ve sınıflandırılmayan kanserler olarak ele alınır. Diffüz karsinom gland formasyonu oluşturmayan diskoheziv hücrelerden oluşan bir tümördür. İntestinal karsinomlar değişen diferansiyasyon derecelerinde glandlardan oluşmaktadır. Bu sınıflamada andiferansiye karsinomlar sınıflandırmayan grubuna girer [18].

### 3.9.3. Diğer Sınıflamalar

Ming sınıflaması; büyüme patternine ve invazyon derecesine dayanan bir sistemdir. Bu sınıflamaya göre tümörler ekspansif ve infiltratif tip olarak ikiye ayrılır. Nakamura sınıflamasında ise, tüm tümörler diferansiye ve andiferansiye olarak ikiye ayrılır. Mulligan sınıflama sisteminde tümörler, mukus, intestinal ve piloro-kardiyak gland tipleri olarak sınıflandırılır. Goseki sınıflandırmasında, tübüler diferansiyasyon ve intrasellüler müsin varlığına göre tümörler 4 kategoriye ayrılmaktadır. Son olarak da Carneiro sınıflamasında, tümörler morfolojik ve immunofenotipik olarak 4 kategoride incelenmektedir: Bunlar glandüler, izole hücreler, solid ve mikst karsinomdur [18].

#### Gradeleme (Derecelendirme)

Derecelendirme sistemi tübüler ve papiller karsinomlar için uygulanır.

**Tablo 3-4:** The American Joint Committee on Cancer (the 8th edition) (AJCC)'e göre derecelendirme sistemi [39]

Grade	
Gx	Grade durumu değerlendirilemiyor
G1	İyi diferansiye
G2	Orta derecede diferansiye
G3	Kötü diferansiye, andiferansiye

Grade	
Gx	Grade durumu değerlendirilemiyor
G1	Tümörün %95'inden fazlası glandlardan oluşmakta
G2	Tümörün %50-%95'i glandlardan oluşmakta
G3	Tümörün %50'sinden azını glandlar oluşturmakta

# GEREÇ ve YÖNTEM

## 1. Olguların Seçimi ve Biyopsi Raporlarının Değerlendirilmesi

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 19-07-2017 tarihinde 2017-10/24 sayılı etik kurul onayı alındı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda elektronik hastane veritabanındaki raporlar incelenerek 2011-2015 tarihleri arasında mide adenokarsinomu tanısı almış olguların tıbbi kayıtlarına ulaşıldı. Çalışmaya dahil edilen olguların arşivden lamalarına ve bloklarına ulaşıldı. Dokuların boyutu, yeterliliği, tespit ve takip kalitesi değerlendirilerek gözden geçirildi. Hastaların yaş, cinsiyet ve klinik bilgilerine hastane veritabanından ulaşıldı. Çalışmaya dahil edilme ve red edilme kriterleri belirlendi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

1. Mide adenokarsinom tanısı almış olmak
2. Vakaların sporadik olması
3. Rezeksiyon sonrası tümör dokusunun birkaç parafine gömülü blokta yer alması

Red kriterleri:

1. Mide müsinöz/müsinöz komponentli karsinom, taşlı yüzük hücreli/taşlı yüzük hücre komponentli karsinom, andiferansiye karsinomlar, mezenkimal tümörler, mikst karsinomlar, andiferansiye karsinomlar ve nadir histolojik varyantlar gibi tipleri içeren vakalar
2. Ailede kanser öyküsü olması
3. Rezeksiyon sonrası tümör dokusunun tek bir parafin blokta yer alması
4. Tespit ve takip kalitesi kötü olan dokular

Çalışmaya dahil edilen olguların tümörlü dokularına ait hemotoksilen eosin boyalı kesitleri, histolojik tümör tipi, patolojik tümör evresi, tümör derecesi, bölgesel lenf nodu tutulumu, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı, eşlik eden intestinal metaplazi varlığı, helicobakter pilori varlığı gibi klinikopatolojik prognostik parametreler açısından tekrar değerlendirildi.

Tüm bu değerlendirmeler ışığında lamlarına ve bloklarına ulaşılabilen, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2011-2015 yılları arasında mide adenokarsinomu tanısı almış 80 olgudan oluşan çalışma grubu belirlendi.

## **2. İmmünohistokimyasal Yöntem**

Hemotoksilen&Eosin (HE) ile boyalı kesitler incelenerek immunhistokimyasal boyamalar için her olguda tümör morfolojisini en iyi temsil eden preparatlar seçildi. Bu preparatların patoloji arşivindeki parafin bloklarına ulaşıldı. Bu bloklardan CerbB2 immunhistokimyasal boyama için 4 mikrometre kalınlığında kesitler hazırlandı. İmmünohistokimyasal yöntemde kullanılacak olan kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. CerbB2 antikoru için kontrol bloğu olarak meme kanseri dokusu kullanıldı.

### **2.1 İmmünohistokimyasal Boyama**

CerbB2 immunhistokimyasal boyama için bir saat etüvde bekletilen lamlar Leica Bond Max Otomatik İmmünohistokimyasal Boyama Cihazına (Leica Microsystems, Berlin, Germany) yerleştirildi ve aşağıdaki prosedür uygulandı:

- 1) 40 dakika deparafinizasyon
- 2) Sitrat ile pH:6'da antijen geri kazanım yöntemi
- 3) Otuz dakika boyunca 1/150 dilüsyonda primer antikor inkübasyonu (Monoklonal fare anti Her-2 antikoru-Novo Castra, Clone CB11)
- 4) 6 dakika boyunca mixed DAB refine

## 5) HE ile zıt boyama

Makineden çıkarılan lamlar saf alkolde 3 kez 3 dakika boyunca bekletildi. Ardından 3 kez 3 dakika boyunca ksilende bekletildi. Sakura Tissue-Tek film kapama cihazında film ile kapama yapıldı.

## 2.2. İmmunhistokimyasal Boya Sonuçlarının Değerlendirilmesi

24 ülkeden 122 merkezin katıldığı uluslararası, randomize kontrollü bir faz 3 çalışma olan Trastuzumab for Gastric Cancer (ToGA) çalışmasında belirlenen kriterlere göre CerbB2 antikorunun boyanma değeri 0 ile +3 arasında skorlanarak değerlendirildi. Kriterlerin detayları Tablo 5'te belirtilmektedir [4].

**Tablo 5:** ToGA Kriterlerine Göre İmmunhistokimyasal Olarak HER2 (CerbB2) Skorlama Metodu

Skor	Cerrahi Spesmen Boyanma Patterni	Biyopsi Materyali Boyanma Patterni	Değerlendirme
0	Boyanma yok ya da %10'un altında tümör hücresinde membranöz boyanma	Hiçbir tümör hücresinde membranöz boyanma veya boyanma yok	Negatif
1+	%10'un üzerinde tümör hücresinde soluk/zayıf; parsiyel membranöz boyanma	Tümör hücre kümelerinde soluk/zayıf parsiyel membranöz boyanma	Negatif
2+	%10'un üzerinde tümör hücresinde zayıf/orta; komplet/bazolateral/lateral membranöz boyanma	Tümör hücre kümelerinde zayıf/orta; komplet/bazolateral/lateral membranöz boyanma	Belirsiz
3+	%10'un üzerinde tümör hücresinde kuvvetli; komplet/bazolateral/lateral membranöz boyanma	Tümör hücre kümelerinde kuvvetli; komplet/bazolateral/lateral membranöz boyanma	Pozitif

### 3. Genetik Analiz ve Değerlendirme

#### 3.1. Tablo 6.Kullanılan aletler

- Polymerase Chain Reaction (PCR) (GeneAMP 9700) (USA)
- Abi Step One Plus Real-Time PCR
- Isıtıcı blok (DB-2A) (Techne, England)
- Santrifüj (22R) (Beckman Coulter, Germany)

- Plate santrifüjü (Thermo, USA)
- Manyetik Karıştırıcı (Vorteks) (Velp Scientifica, Italy)
- + 4°C Buzdolabı (Alaska, İstanbul, Turkey)
- - 20°C Buzdolabı (Bosch, İstanbul, Turkey)
- - 80°C Buzdolabı (Nüve, İstanbul, Turkey)
- PCR UV kabini (Biosan, Latvia)
- Spektrofotometre (Beckman Coulter)

### **Tablo 7.Kullanılan Kimyasal Malzemeler**

- RNeasy FFPE kiti (50 örneklik) (Qiagen, USA)
- Biostic Paraffin Removal Reagent (MO BIO, USA)
- RNA Extraction kit (QIAGEN, Germantown, Maryland, USA)
- ProtoScript M-MuLV First Stand cDNA Synthesis Kit (Biolabs, USA)
- Taqman Gene Expression Master Mix (Applied Biosystem, USA)
- Taqman Gene Expression Assays (Applied Biosystem, USA)
- Etanol (Merck, Germany)

## **3.2 Yöntemler**

### **Parafinize Edilmiş Doku Örneklerinden RNA Elde Edilmesi**

Parafine gömülü tümör ve normal dokular arşivden temin edildi. Bloklardan 0.2-0.4 cm doku kesilerek 1,5 ml' lik ependorf tüpler içerisine alındı. Materyaller, BIOstic (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA) ile 2 kez muamele edilerek parafinden arındırıldı. BIOstic ile doku üzerindeki parafin

çözdürüldükten sonra materyaller, %100-%70 ve %40' lık alkol aşamalarından geçirildi ve alkol oda ısısında uçuruldu. Bu aşamalardan sonra 80 hastaya ait tümörlü doku ve 70 normal mide dokusundan, parafin bloktan RNA izolasyonuna uygun ticari kit (Qiagen RNeasy FFPE kit) kullanılarak prosedüre uygun şekilde RNA izolasyonu gerçekleştirildi.

### **Elde Edilen RNA' ların Miktar ve Kalite Tayini**

Elde edilen RNA' ların miktarı ve kalitesi Spektrometre (Beckman Coulter) cihazı kullanılarak ölçüldü (Tablo 6). RNA örneklerinin 260 ve 280 nm' deki dalga boylarında yapılan ölçümleri ve bu dalga boylarından elde edilen değerlerin birbirlerine olan oranları, miktar ve kalite konusunda bilgi verdi.

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon özelliği göstermektedirler. Bu nedenle 260 nm' de ölçülen absorpsiyon değerleri oldukça saf olarak izole edilen nükleik asitlerin ng/µL veya µg/mL düzeyinde miktarlarının belirlenmesinde kullanılır. RNA' nın konsantrasyonunun saptanmasında kullanılan spektrofotometrik yöntemler DNA' nın spektral analizi ile tamamen aynıdır. Sadece tek zincirli RNA' nın miktarının belirlenmesinde kullanılan formül farklıdır.

### **Total RNA (ng/µl) = 260 nm' deki absorbans x 40 x Dilüsyon Faktörü**

RNA molekülleri için 1 optik dansitenin 40 µg/mL' ye karşılık geldiği bilinmektedir. Bununla birlikte 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan değerler arasındaki oran nükleik asitlerin saflığı hakkında bilgi vermektedir. Proteinlerde bilindiği gibi 280 nm' de absorpsiyon özelliği gösterirler. Bu nedenle 280 nm' de ölçülen bir değerdeki artışı A260/A280 oranında düşmeye neden olur. izole edilen total RNA örneklerinin saflığından bahsetmek için bu oran 1.8-2.00 arasında olmalıdır .

### **RNA' lardan cDNA Sentezi**

Elde edilen total RNA' nın 5 ng' ProtoScript M-MuLV First Stand cDNA Synthesis Kit' i kullanılarak komplementer DNA (cDNA) elde edildi. İzole edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi için kullanılan PCR karışımı ve programı Tablo-8 ve Tablo-9' da verildi. Çalışılması hedeflenen her bir örnek



için 0,2 µl' lik PCR tüpü içerisine Tablo-7' te verilen malzemelerden reaksiyon karışımı oluşturuldu. Elde edilen miks pipetaj yapılarak karıştırıldı ve santrifüje alınarak spin atıldı. Polymerase Chain Reaction (PCR) tüpü içerisindeki miks, 37°C' de 2 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası elde edilen cDNA' lar üzerine reaksiyon karışımı bulunan her bir PCR tüpüne 90 µl dH<sub>2</sub>O ilave edilerek karıştırıldı ve ürünler bir sonraki aşamaya kadar -20°C' de saklandı (Tablo-6 ve Tablo-7).

**Tablo 8:** cDNA sentezi için oluşturulan reaksiyon karışımı.

Bileşenler	1 Örneklik Reaksiyon
RNA	50 ng-200 ng (0.5 µg- 2 µg)
M-MuLV Enzyme Mix (10X)	3.5 µl
M-MuLV Reaction Mix (2X)	7.5 µl
Random Primer (60 µM)	2.5 µl
Nucleas-free H <sub>2</sub> O	Toplam hacim 20.0 µl olacak şekilde dH <sub>2</sub> O ile tamamlanır

**Tablo 9:** cDNA sentezi için kullanılan PCR programı.

PCR Programı	
16 °C' de	→30 dakika
42 °C' de	→ 30 dakika
85 °C' de	→ 5 dakika
4 °C' de	→ ∞

## Real-Time PCR ile CERBB2 Expresyon Analizleri

Çalışmamızda kullanılmak üzere belirlediğimiz CerbB2 ilgili primerler literatürden seçilmiştir. Çalışmada, PCR döngüsü esnasında oluşan spesifik PCR ürününü belirlemek ve eş zamanlı değerlendirmek amacıyla floresan ışığa yapabildiği işaretli (Taqman probu) primerler kullanıldı.

mRNA ekspresyonlarının Ct değerleri, Abi Step One Plus Real-Time PCR cihazının veri tabanından yararlanılarak elde edildi. Eşik değeri (Threshold) olarak tanımlanan CT değeri, floresan ışımada ( $\Delta R_n$ ) artışın başladığı ilk siklusu ifade eder.  $R_n(+)$ , yüklenen örneğin reaksiyona giren tüm komponentlerin floresan emisyonu,  $R_n(-)$  ise negatif kontrolün ve reaksiyonu gerçekleşmeyen örneklerin floresan emisyonu olarak tanımlanmaktadır.  $\Delta R_n$ ,  $R_n(+)$  ve  $R_n(-)$  arasındaki fark olup, CT değerinin hesaplanmasında kullanılan temel göstergedir. Çalışmada, housekeeping gen olarak kullanılan Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) geninin ortalama Ct değeri belirlenerek PCR Array' den elde edilen verilerin normalizasyonu yapıldı.

### 4. İstatistiksel Analiz ve Değerlendirme

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Sürekli değişkenler medyan (minimum:maksimum) değerleriyle ifade edilmiştir. Kategorik değişkenler ise n(%) ile ifade edilmiştir. Normalite testi sonucuna göre iki grup arasında yapılan karşılaştırmalarda bağımsız iki örneklem Mann Whitney testi, üç grup arasında yapılan karşılaştırmalarda bağımsız örneklem Kruskal Wallis testi, kategorik değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında ise Pearson ki-kare testi, Fisher'in kesin ki-kare testi ve Fisher-Freeman-Halton testleri kullanılmıştır. İstatistiksel analizler için SPSS (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) programı kullanılmış olup  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

# BULGULAR

## 1.Olgular

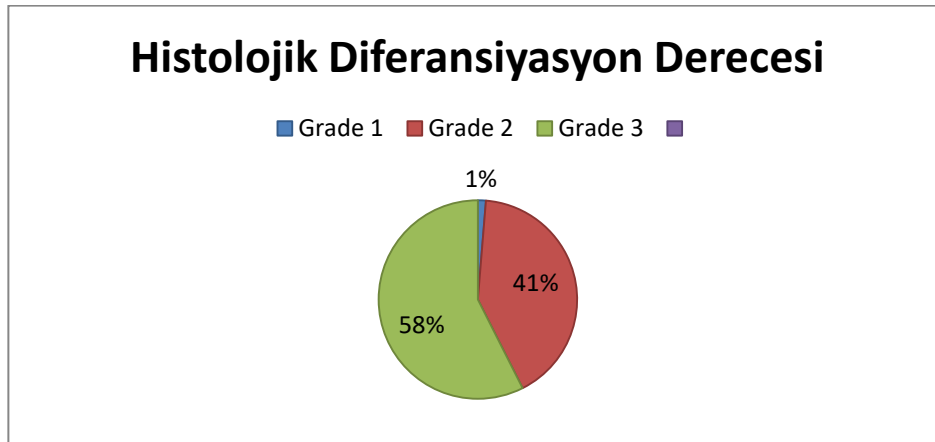
Çalışmaya dahil edilen mide adenokarsinomu tanısı almış 80 olgunun 60'ı (%75) erkek, 20'si (%25) kadındır. Tüm olguların yaş dağılımı 43-88 arasında olup, ortalama yaş 55,2 'dir. Kadınların yaş ortalaması 55,4 (48-85), erkeklerin yaş ortalaması 55,18 (43-88) bulunmuştur.

**Tablo 10:** Mide adenokarsinomu olgularında yaş ve cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Sayı(n)	Yaş Ortalaması	Yaş Dağılımı
Kadın	20	55,4	48-85
Erkek	60	55,1	43-88
Toplam	80	55,2	43-88

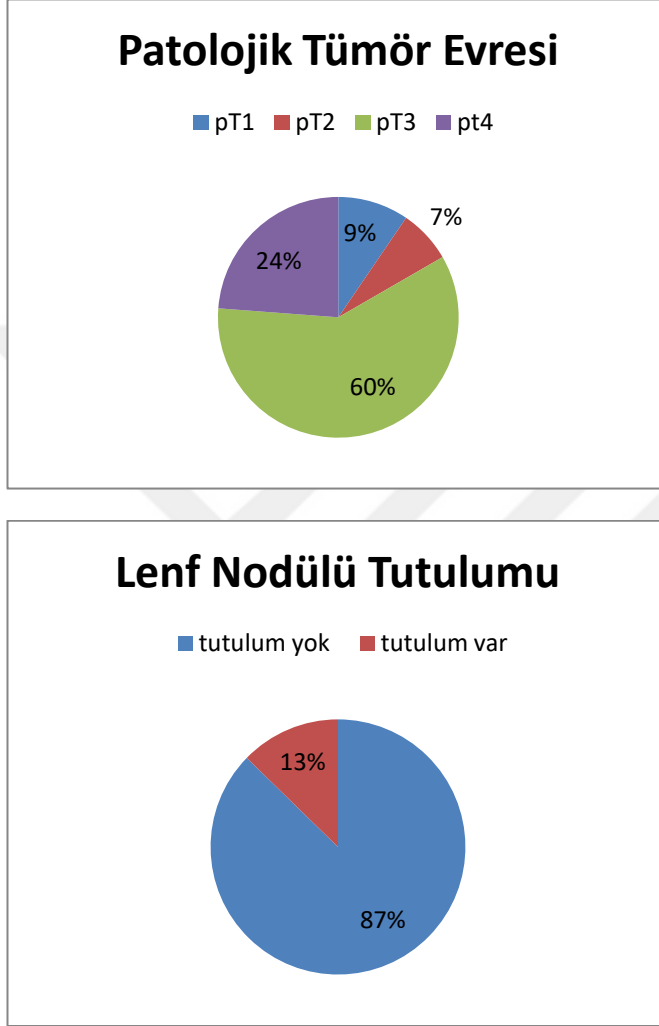
Olguların 36 tanesinde tümörün en uzun çapı 5 cm'den küçük (%45) iken, 44 tanesinde tümörün en uzun çapı 5 cm'den büyüktür (%55).

Tümörlerin histolojik diferansiyasyon derecesi (grade) dağılımı incelendiğinde; 1 olgu (%1,3) iyi diferansiye (grade 1), 33 olgu (%41,3) orta diferansiye (grade 2), 46 olgu (%57,5) kötü diferansiye (grade 3) şeklindedir.



**Şekil 5:** Olguların Grade Dağılımları

Olgular patolojik tümör evresine (pT) göre değerlendirildiğinde; 8 olgu (%10) pT1, 6 olgu (%7,5) pT2, 50 olgu (%62,5) pT3, 16 olgu (%20) pT4 şeklindedir. Olguların 22 tanesinde (%27,5) lenf nodülü tutulumu izlenmez iken, 58 tanesinde (%72,5) lenf nodülü tutulumu mevcuttur.



Şekil 6-7: Olguların pT evresi ve lenf nodülü tutulumu dağılımları

Olguların 21'inde (%26,3) lenfovasküler invazyon; 38'inde (%47,5) perinöral invazyon mevcuttur.

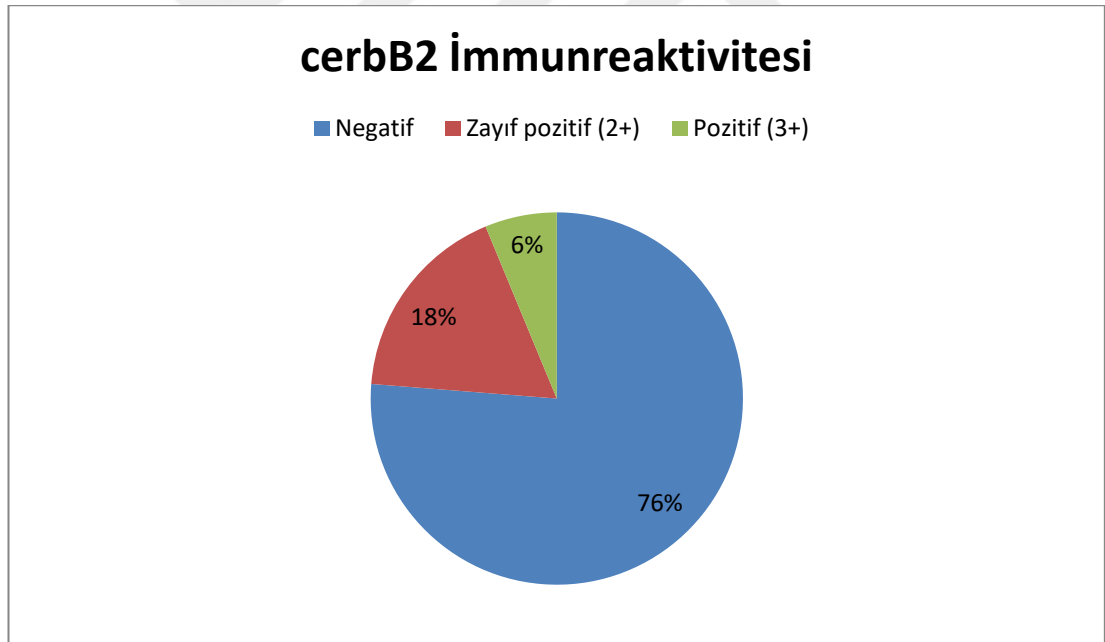
Olguların 38'inde (%47,5) intestinal metaplazi izlenmemiştir. Kalan 42 olgunun 35 tanesinde (%43,8) komplet tipte intestinal metaplazi, 1 tanesinde (%1,3) inkomplet enterik tipte intestinal metaplazi, 6 tanesinde (%7,5)

inkomplet kolonik tipte intestinal metaplazi mevcuttur. 6 olguda (%7,5) H.pilori saptanmıştır.

## 2. İmmunohistokimyasal Bulgular

### 2.1. cerbB2 Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Parametreler ile İlişkisi

cerbB2 antikoru kullanılarak yapılan immunohistokimyasal çalışmada 80 olgunun 61 tanesinde (%76,25) immunreaktivite izlenmez iken; 14 tanesinde (%17,5) zayıf pozitif immunreaksiyon, 5 tanesinde (%6,25) kuvvetli pozitif immunreaksiyon izlendi.



**Şekil 8:** Olguların cerbB2 immunreaktivitesine göre dağılımı

## Yaş Dağılımı

CerbB2 kuvvetli (3+) pozitif olan olgularda yaş dağılımı 52-88 aralığında olup ortalama yaş 68,4'tür. cerbB2 zayıf (2+) pozitif olan olgularda yaş dağılımı 53-83 aralığında olup ortalama yaş 67'dir. cerbB2 negatif olan olgularda ise yaş dağılımı 43-85 aralığındadır ve ortalama yaş 69 olarak saptanmıştır. Yaş dağılımı açısından cerbB2 kuvvetli (3+) pozitif olan olgularda zayıf (2+) pozitif ve negatif olanlara göre anlamlı fark saptanmamıştır. Tümör hücrelerinde cerbB2 boyanma skoru ile yaş arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

## Cinsiyet

CerbB2 immunreaktivitesi göstermeyen 61 olgunun 45'i (%73,8) erkek, 16'sı (%26,2) kadındır. Zayıf (2+) pozitif immunreaktivite gösteren 14 olgunun 11'i (%78,6) erkek, 3'ü (%21,4) kadındır. Kuvvetli (3+) pozitif immunreaktivite gösteren 5 olgunun ise 4'ü (%80) erkek, 1'i (%20) kadındır. CerbB2 boyanma skoru ile kadın ve erkek olgular arasında istatistiksel anlamlı ilişki gözlenmemiştir.

## Tümör Boyutu

CerbB2 immunreaktivitesi göstermeyen 61 olgunun 28 tanesi (%45,9) 5 cm'den küçük, 33 tanesi (%54,1) 5 cm'den büyüktür. CerbB2 zayıf (2+) pozitif saptanan 14 olgunun 6 tanesi (%42,9) 5 cm'den küçük, 8 tanesi (%57,1) 5 cm'den büyüktür. cerbB2 kuvvetli (3+) saptanan 5 olgunun 2 tanesi (%40) 5 cm'den küçük, 3 tanesi (%60) 5 cm'den büyüktür. CerbB2 boyanma skoru ve tümör boyutu arasında istatistiksel anlamlı ilişki gözlenmemiştir.

## Patolojik Tümör Evresi

CerbB2 immunreaktivitesi göstermeyen 61 olgunun 8'i (%13,1) pT1, 5'i (%8,2) pT2, 33'ü (%54,1) pT3, 15'i (%24,6) pT4'tür. Boyanma skoru 2+ olan 14 olgunun 1'i (%7,1) pT1, 1'i (%7,1) pT4, 12'si (85,7) pT3'tür. Boyanma skoru 3+ olan 5 olgunun tamamı pT3 olarak saptanmıştır. CerbB2

immunreaktivitesi patolojik tümör evresindeki artış ile beraber artmaktadır ancak iki parametre arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

**Tablo 11:** Olguların cerbB2 boyanma skorunun patolojik tümör evresi ile karşılaştırılması

Patolojik tümör evresi	cerbB2 immunohistokimya			Toplam
	Negatif	Zayıf Pozitif	Kuvvetli Pozitif	
pT1	8 (%13,1)	0	0	8
pT2	5 (%8,2)	1 (%7,1)	0	6
pT3	33 (%54,1)	12 (%85,7)	5 (%100)	45
pT4	15 (%24,6)	1 (%7,1)	0	16
Toplam	61	14	5	80

## Tümör Grade'i

Tümör grade'i, cerbB2 immunreaktivitesi göstermeyen 61 olgunun 24'ünde (%39,3) Grade 2, 37'sinde Grade 3; boyanma skoru 2+ olan 14 olgunun 6'sında (%42,9) Grade 2, 8'inde (%57,1) Grade 3; boyanma skoru 3+ olan 5 olgunun 1'inde (%20) Grade 1, 1'inde (%20) Grade 3, 3'ünde (%60) Grade 2 olarak saptanmıştır. CerbB2 boyanma skoru ile olguların Grade dağılımları arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

**Tablo 12:** Olguların cerbB2 boyanma skoruna göre Grade dağılımları

Grade	cerbB2 immunohistokimya			Toplam
	Negatif	Zayıf pozitif	Kuvvetli pozitif	
1	0	0	1 (%20)	1
2	24 (%39,3)	6 (%42,9)	3 (%60)	33
3	37 (%60,7)	8 (%57,1)	1 (%20)	46
Toplam	61	14	5	80

## Lenf Nodülü Tutulumu

CerbB2 immunrealivitesi göstermeyen 61 olgunun 45'inde (%73,8), boyanma skoru 2+ olan 14 olgunun 10'unda (%71,4), boyanma skoru 3+ olan 5 olgunun 3'ünde (%60) lenf nodülü tutulumu mevcuttur. CerbB2 boyanma skoru ile lenf nodülü tutulumu arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

## Lenfovasküler İnvazyon

CerbB2 immunreaktivitesi göstermeyen 61 olgunun 15'inde (%24,6), boyanma skoru 2+ olan 14 olgunun 3'ünde (%21,4), boyanma skoru 3+ olan 5 olgunun 3'ünde (%60) lenfovasküler invazyon gözlenmiştir. CerbB2 boyanma skoru ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

**Tablo 13:** Olguların cerbB2 boyanma skoru ve lenfovasküler invazyon dağılımlarının karşılaştırılması

Lenfovasküler İnvazyon	cerbB2 immunohistokimya			Toplam
	Negatif	Zayıf pozitif	Kuvvetli pozitif	
Yok	46 (%75,4)	11 (78,6)	2 (%40)	59
Mevcut	15 (%24,6)	3 (%21,4)	3 (%60)	21
Toplam	61	14	5	80

## Perinöral İnvazyon

CerbB2 immunreaktivitesi göstermeyen 61 olgunun 29'unda (%47,5), boyanma skoru 2+ olan 14 olgunun 7'sinde (%50), boyanma skoru 3+ olan 5 olgunun 2'sinde (%40) perinöral invazyon saptanmıştır. CerbB2 boyanma skoru ile perinöral invazyon arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.



## İntestinal Metaplazi

CerbB2 immunreaktivitesi göstermeyen 61 olgunun 32'sinde (%52,5), boyanma skoru 2+ olan 14 olgunun 9'unda (%64,3), boyanma skoru 3+ olan 5 olgunun 1'inde(%20) intestinal metaplazi saptanmıştır. CerbB2 boyanma skoru ile intestinal metaplazi varlığı arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

## Helikobakter Piloni

CerbB2 immunreaktivitesi göstermeyen 61 olgunun 2'sinde (%3,3), boyanma skoru 2+ olan 14 olgunun 2'sinde (%14,3), boyanma skoru 3+ olan 5 olgunun 2 'sinde (%40) h.piloni saptanmıştır. CerbB2 boyanma skoru ile H.piloni arasında istatistiksel anlamlılık tespit edilmiştir (**p<0,05**).

**Tablo 14:** Olguların cerbB2 boyanma skoru ile H.piloni dağılımlarının karşılaştırılması

	cerbB2 immunohistokimya			
H.piloni	Negatif	Zayıf pozitif	Kuvvetli pozitif	Toplam
Yok	59 (%96,7)	12 (%85,7)	3 (%60)	74
Mevcut	2 (%3,3)	2 (%14,3)	2 (%40)	6
Toplam	61	14	5	80

## 3. Genetik Analiz Sonuçları

### 3.1 Real Time-PCR Yöntemi ile Belirlenen CerbB2 Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Parametreler ile İlişkisi

CerbB2 immunreaktivitesi göstermeyen 61 vakanın 57'sinde (%96,6) normale göre erbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmemektedir. 4 vakada ise normale göre cerbB2 ekspresyonunda artış mevcuttur. Zayıf pozitif (boyanma skoru 2+) saptanan 14 olgunun 2'sinde (%25) gen ekspresyonunda farklılık izlenmez iken, 12 vakada (%75) gen ekspresyonunda artış izlenmiştir. Kuvvetli cerbB2 immunreaktivitesi (boyanma skoru 3+) gösteren 5 olgunun tamamında cerbB2 gen

ekspresyonu yüksektir. CerbB2 immunohistokimyasal bulguları ile gen ekspresyonu arasında %89 oranında uyumluluk ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

**Tablo 15:** Olguların cerbB2 boyanma skorlarının cerbB2 gen ekspresyonu ile karşılaştırılması

cerbB2 immunohistokimya	cerbB2 gen ekspresyonu		
	cerbB2 downregülasyonu	cerbB2 upregülasyonu	Toplam
Negatif	57 (%96,6)	4 (3,4)	61
Zayıf Pozitif (2+)	2 (%25)	12 (%75)	14
Toplam	59	16	75

## Yaş Dağılımı

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenen 21 vakanın yaş dağılımı 52-88 aralığındadır, yaş ortalaması 69,28 bulunmuştur. CerbB2 gen ekspresyonu izlenmeyen 59 vakanın ise yaş dağılımı 43-85 aralığındadır ve yaş ortalaması 66,59 bulunmuştur. Olguların yaşları ile cerbB2 gen ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmemiştir.

## Cinsiyet

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen 59 vakanın 45'i (%76,3) erkek, 14'ü (%23,7) kadındır. CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenen 21 vakanın ise 15'i (%71,4) erkek, 6'sı (%28,6) kadındır. Olguların cinsiyeti ve cerbB2 gen ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmemiştir.

## Tümör Boyutu

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen 59 vakanın 28'i (%47,5) 5 cm'den küçük, 31'i (%52,5) 5 cm'den büyüktür. cerbB2 gen ekspresyon artışı olan 21 vakanın ise 8 tanesi (%38,1) 5 cm'den küçük, 13 tanesi (%61,9) 5

cm'den büyüktür. Tümör boyutu ile cerbB2 gen ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmemiştir.

## Patolojik Tümör Evresi

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen 59 vakanın 8'i (%13,6) pT1, 5'i (%8,5) pT2, 31'i (%52,5) pT3, 15'i (%25,4) pT4'tür. cerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenen 21 vakanın ise 1'i (%4,8) pT2, 1'i (%4,8) pT4, 19'u (%90,5) pT3'tür. cerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen grupta pT3 sıklığı daha fazla saptanmıştır. Patolojik tümör evrelerinin dağılımına göre gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttur (**p<0,05**).

**Tablo 16:** Olguların cerbB2 gen ekspresyonları ile patolojik tümör evreleri arasındaki dağılım

Patolojik tümör evresi	cerbB2 gen ekspresyonu		Toplam
	downregüle	upregüle	
pT1	8 (%13,6)	0	8
pT2	5 (%8,5)	1 (%4,8)	6
pT3	31 (%52,5)	19 (%90,5)	50
pT4	15 (%25,4)	1 (%4,8)	16
Toplam	59	21	80

## Tümör Grade'i

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen 59 vakanın 24'ü (%40,7) Grade2, 35'i (%59,3) Grade3 'tür. CerbB2 gen ekspresyon artışı mevcut olan 21 vakanın ise 1'i (%4,8) Grade1, 9'u (%42,9) Grade 2, 11'i (%52,4) Grade 3'tür. CerbB2 gen ekspresyonu ile tümör histolojik grade'i arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

**Tablo 17:** Olguların cerbB2 gen ekspresyonları ve Grade dağılımları

Grade	cerbB2 gen ekspresyonu		Toplam
	downregüle	upregüle	
Grade1	0	1 (%4,8)	1
Grade 2	24 (%40,7)	9 (%42,9)	33
Grade 3	35 (%50,9)	11 (%52,4)	46
Toplam	59	21	80

## Lenf Nodülü Tutulumu

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen 59 vakanın 43'ünde (%72,9), cerbB2 gen ekspresyonunda artış olan 21 vakanın ise 15'inde (%71,4) lenf nodülü tutulumu mevcuttur. Lenf nodülü tutulumu ile cerbB2 gen ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

## Lenfovasküler İnvazyon

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen 59 vakanın 13'ünde (%22), cerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenen 21 vakanın 8'inde (%38,1) lenfovasküler invazyon izlenmiştir. CerbB2 gen ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

**Tablo 18:** cerbB2 gen ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arası dağılım

Lenfovasküler İnvazyon	cerbB2 gen ekspresyonu		Toplam
	Downregüle	upregüle	
Yok	46 (%78)	13 (%61,9)	59
Mevcut	13 (%22)	8 (%38,1)	21
Toplam	59	21	80

## Perinöral İnvazyon

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen 59 vakanın 27'sinde (%45,8), cerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenen 21 vakanın ise 11'inde (%52,4) perinöral invazyon izlenmiştir. CerbB2 gen ekspresyonu ile perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

## İntestinal Metaplazi

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen 59 vakanın 31'inde (%52,5) intestinal metaplazi mevcut iken; cerbB2 gen ekspresyonunda artış mevcut olan 21 vakanın 11'inde (%52,4) intestinal metaplazi gözlenmiştir.

CerbB2 gen ekspresyonu ile intestinal metaplazi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

## Helikobakter Piloni

CerbB2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen 59 vakanın 3'ünde (%5,1), cerbB2 gen ekspresyonunda artış mevcut olan 21 vakanın 3'ünde (%14,3) helikobakter pilori saptanmıştır. CerbB2 gen ekspresyonu ile helikobakter pilori arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

**Tablo 19. Olguların HER2\_immunohistokimya gruplarına göre sosyo-demografik özellikleri**

	<b>Negatif (n=61)</b>	<b>Zayıf Pozitif (n=14)</b>	<b>Kuvvetli Pozitif (n=5)</b>	<b>p- değeri</b>
<b>Yaş (yıl)</b>	68(43:85)	67(53:83)	63(52:88)	0,873 <sup>a</sup>
<b>Cinsiyet(K/ E)</b>	45(%73,80)/16(%26,20)	11(%78,60)/3(%21,40)	4(%80)/1(%20)	1,000 <sup>b</sup>

Veriler n(%), medyan(minimum:maksimum) olarak verilmiştir. a: Kruskal-Wallis testi. b: Fisher Freeman Halton testi

**Tablo 20. Olguların HER2 immunohistokimya gruplarına göre klinikopatolojik özellikleri**

	<b>Negatif (n=61)</b>	<b>Zayıf Pozitif (n=14)</b>	<b>Kuvvetli Pozitif (n=5)</b>	<b>p- değeri</b>
<b>Patolojik tümör evresi</b>				
1	8(%13,10)	0	0	0,278 <sup>b</sup>
2	5(%8,20)	1(%7,10)	0	
3	33(%54,1 0)	12(%85,70)	5(%100)	
4	15(%24,6 0)	1(%7,10)	0	
<b>Lenf nodu tutulumu(var)</b>	45(%73,8 0)	10(%71,40)	3(%60)	0,813 <sup>b</sup>
<b>H.pilori(var)</b>	2(%3,30)	2(%14,30)	2(%40)	<b>0,010<sup>b</sup></b>
<b>Grade</b>				
1	0	0	1(%20)	0,076 <sup>b</sup>
2	24(%39,3 0)	6(%42,90)	3(%60)	
3	37(%60,7 0)	8(%57,10)	1(%20)	
<b>P53 immunohistokimya</b>				
0	28(%45,9 0)	6(%42,90)	1(%20)	0,684 <sup>b</sup>
1	8(%13,10)	3(%21,40)	0	
2	12(%19,7 0)	3(%21,40)	2(%40)	
3	13(%21,3 0)	2(%14,30)	2(%40)	
<b>P53 (var)</b>	33(%54,1 0)	8(%57,10)	4(%80)	0,610 <sup>b</sup>
<b>Çap</b>				
0	28(%45,9 0)	6(%42,90)	2(%40)	1,000 <sup>b</sup>
1	33(%54,1 0)	8(%57,10)	3(%60)	
<b>Vasküler invazyon(var)</b>	15(%24,6 0)	3(%21,40)	3(%60)	0,237 <sup>b</sup>
<b>Perinöral invazyon(var)</b>	29(%47,5 0)	7(%50)	2(%40)	1,000 <sup>b</sup>
<b>İnestinal metaplazi varlığı</b>				
0	29(%47,5 0)	5(%35,70)	4(%80)	0,606 <sup>b</sup>
1	27(%44,3 0)	7(%50)	1(%20)	
2	1(%1,60)	0	0	
3	4(%6,60)	2(%14,30)	0	
<b>İnestinal metaplazi 2(var)</b>	32(%52,5 0)	9(%64,30)	1(%20)	0,264 <sup>b</sup>

Veriler n(%) olarak verilmiştir.b: Fisher Freeman Halton testi

**Tablo 21. Olguların HER2\_PCR gruplarına göre sosyo-demografik özellikleri**

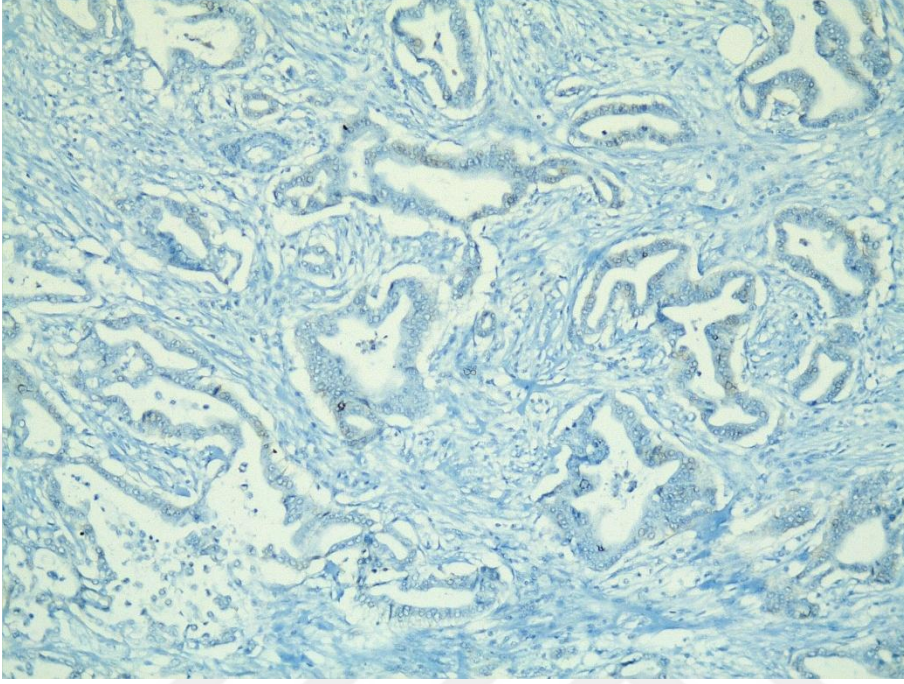
	<b>Negatif (n=59)</b>	<b>Pozitif (n=21)</b>	<b>p- değeri</b>
<b>Yaş (yıl)</b>	68(43:85)	67(52:88)	0,734 <sup>c</sup>
<b>Cinsiyet(K/E)</b>	45(%76,30)/14(%23,70)	15(%71,40)/6(%28,60)	0,660 <sup>d</sup>

Veriler n(%), medyan(minimum:maksimum) olarak verilmiştir. c: Mann Whitney U testi. d: Pearson Chi Square testi

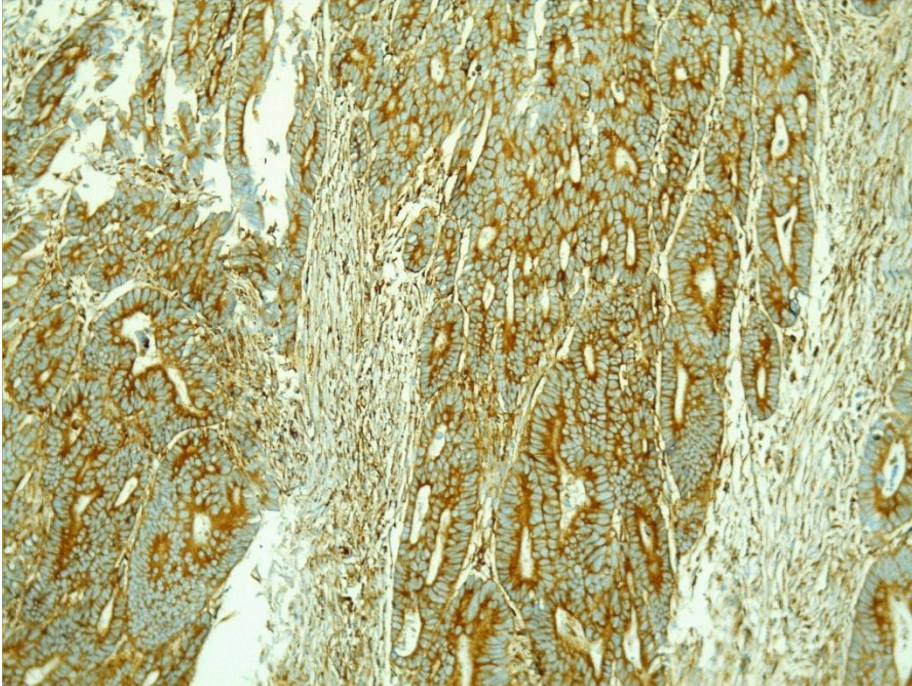
**Tablo 22. Olguların HER2\_PCR gruplarına göre klinikopatolojik özellikleri**

	<b>Negatif (n=59)</b>	<b>Pozitif (n=21)</b>	<b>p- değeri</b>
<b>Patolojik tümör evresi</b>			
1	8(%13,60)	0	<b>0,015<sup>b</sup></b>
2	5(%8,50)	1(%4,80)	
3	31(%52,50)	19(%90,50)	
4	15(%25,40)	1(%4,80)	
<b>Lenf nodu tutulumu(var)</b>	43(%72,90)	15(%71,40)	0,898 <sup>d</sup>
<b>H.pilori(var)</b>	3(%5,10)	3(%14,30)	0,182 <sup>e</sup>
<b>Grade</b>			
1	0	1(%4,80)	0,300 <sup>b</sup>
2	24(%40,70)	9(%42,90)	
3	35(%59,30)	11(%52,40)	
<b>Çap</b>			
0	28(%47,50)	8(%38,10)	0,459 <sup>d</sup>
1	31(%52,50)	13(%61,90)	
<b>Vasküler invazyon(var)</b>	13(%22)	8(%38,10)	0,151 <sup>d</sup>
<b>Perinöral invazyon(var)</b>	27(%45,80)	11(%52,40)	0,602 <sup>d</sup>
<b>İnestinal metaplazi varlığı</b>			
0	28(%47,50)	10(%47,60)	0,898 <sup>b</sup>
1	26(%44,10)	9(%42,90)	
2	1(%1,70)	0	
3	4(%6,80)	2(%9,50)	
<b>İnestinal metaplazi 2(var)</b>	31(%52,50)	11(%52,40)	0,990 <sup>d</sup>

Veriler n(%) olarak verilmiştir. b: Fisher Freeman Halton testi d: Pearson Chi Square testi e: Fisher's Exact Testi

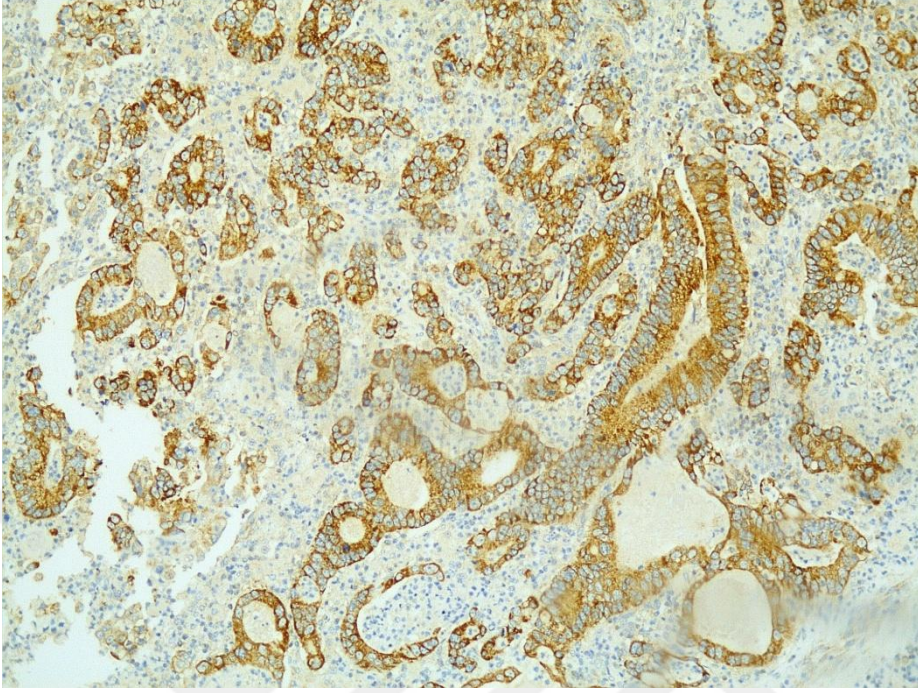


**Şekil 9:** cerbB2 negatif, boyanma skoru 0 (x40)

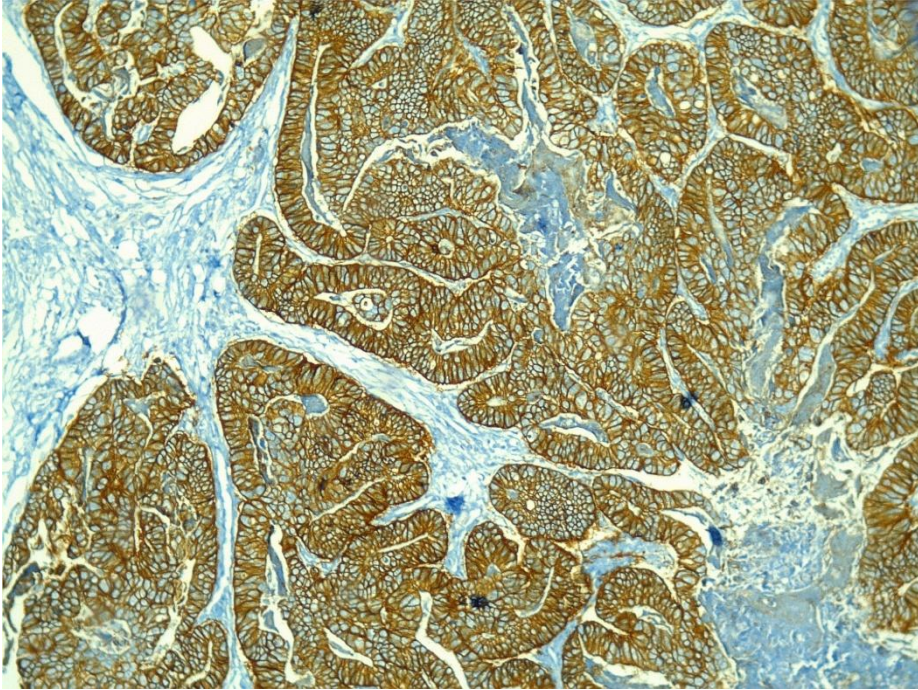


**Şekil 10:** cerbB2 zayıf pozitif, boyanma skoru 2 (x10)

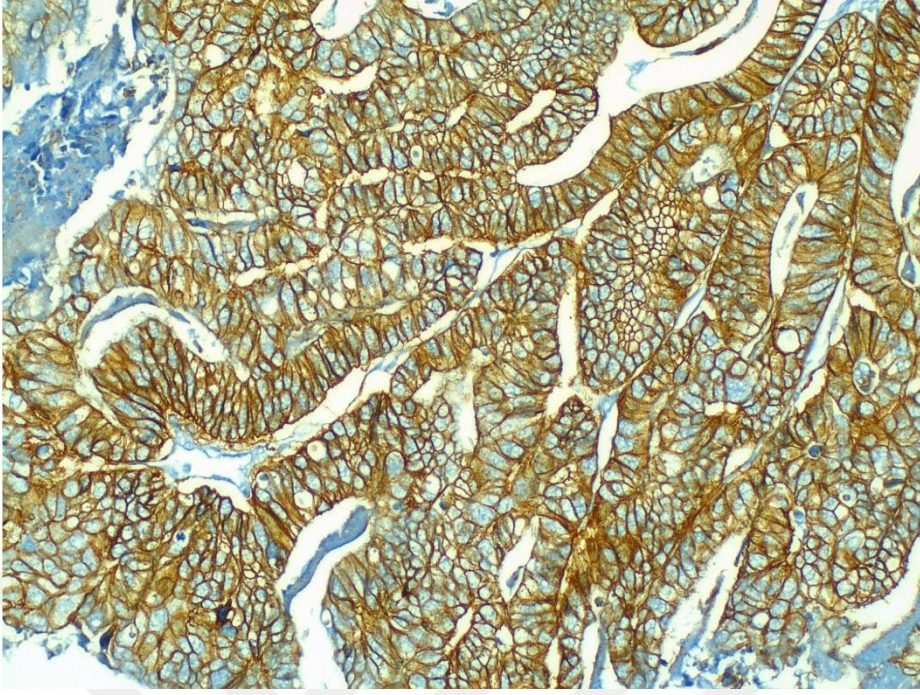




**Şekil 11:** cerbB2 zayıf pozitif, boyanma skoru 2 (x10)



**Şekil 12:** cerbB2 kuvvetli pozitif, boyanma skoru 3 (x10)



**Şekil 13:** cerbB2 kuvvetli pozitif, boyanma skoru 3 (x40)

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Mide kanseri tüm dünyada kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer alan gastrointestinal sistemin en sık görülen malignitelerinden biridir [6,40]. Hastalar genellikle ileri dönemde ve uzak metastaz ile prezente olduğu için prognoz kötüdür [41].

Cerrahi rezeksiyon, erken evre hastalarda temel tedavi şekli iken, ileri evre hastalarda tek başına yetersiz kalabilmekte; kemoterapi veya adjuvan kemoradyoterapi ile kombinasyon yaşam beklentisini %10-30'dan %30-60'a çıkarmaktadır [42].

Son yıllarda tümörlerin moleküler temellerinin aydınlatılmaya başlaması ile birlikte hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonuna direkt olarak müdahale eden hedefe yönelik tedaviler ön plana çıkmıştır [41].

HER-2/neu ya da cerbB-2, intrinsik tirozin kinaz aktivitesine sahip HER ailesinin (EGFR, erbB-2, erbB-3 ve erbB-4) bir üyesi olan büyüme faktörüdür [40,43]. HER-2, kromozom 17q21'de lokalize bir gen tarafından kodlanmaktadır. Tümörögenizde, bu genin amplifiye olması sonucunda hücre membranlarında artan protein overekspresyonu malign hücre dönüşümüne yol açmaktadır [34]. Trastuzumab ile kombine edilmiş kemoterapi HER-2 pozitif ilerlemiş mide ve gastroözofageal kanserli hastalarda standart tedavi protokolü olarak günümüzde kullanılmaktadır [44]. Başta meme kanserli hastalar olmak üzere HER-2 reseptörüne karşı geliştirilmiş Trastuzumab'ın tedavi protokollerinde yer alması için tümör hücrelerinde HER-2 durumunun doğru tespit edilmesi gerekmektedir [45].

HER-2'nin tümör hücrelerinde saptanmasında rutin pratikte uygulanan temel metodlar, immunohistokimyasal çalışma (İHK) ve in situ hibridizasyon yöntemleridir. Günümüzde en sık kullanılan in situ hibridizasyon yöntemi floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği iken, kromojenik in situ hibridizasyon (CISH) ve silver (gümüş) in situ hibridizasyon (SISH) daha

nadir kullanılan tekniklerdir. Fakat bu yöntemlerde elde edilen sonuçlar her zaman birbirleri ile tamamen uyumlu değildir. Gen amplifikasyonu her zaman immunohistokimyasal olarak gösterilen protein ekspresyonu ile sonuçlanmaz. Protein ekspresyonu varlığında da her zaman gen amplifikasyonu saptanamayabilir [46]. Literatürde FISH yöntemi ile saptanan HER-2 gen amplifikasyonu %7.1-42 oranında bildirilirken immunohistokimyasal yöntem ile saptanan HER-2 protein ekspresyonu %6.8-42 oranındadır [46,47,48].

Rutin pratikte, HER-2 ekspresyonunun saptanmasında immunohistokimyasal yöntem, daha düşük maliyetler ve daha kolay teknik gerektirdiğinden ön plana çıkmaktadır. İmmunohistokimyasal olarak HER-2 protein ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi formalin fikse parafine gömülü dokularda antikor özelliklerine göre boyanma yoğunluğu değerlendirilerek yapılmaktadır. Olguların ileri genetik değerlendirme ihtiyacı olup olmadığı da immunohistokimyasal yöntem sonrasında belirlenmektedir [49,50,51,52,53]. Bunun yanında immunohistokimya sonuçları, değişik antikorların kullanılması, değişken teknikler, kullanılan skorlama sistemi gibi nedenler ile yanlış pozitif veya negatif sonuçlanabilmektedir [46].

Meme kanserli vakalarda formalin fikse parafine gömülü dokulardan HER-2 RNA' nın PCR yöntemi ile saptandığı çalışmalar literatürde mevcuttur. Bu çalışmalarda PCR sonuçları ile standart immunohistokimya arasında uyum oranları %90 civarındadır. ISH ve immunohistokimya semi-kantitatif metodlar iken PCR kantitatif bir metod olup, değerlendirenler arası uyumsuzluk izlenmemektedir [46].

Bosard ve ark. (54) meme kanserli 44 vakanın immunohistokimya ve PCR sonuçlarını değerlendirdikleri çalışmalarında HER-2 protein ekspresyonu ile gen amplifikasyonu arasında %84 uyum saptayarak HER-2 durumunu belirlemede RT-PCR yönteminin alternatif bir metod olabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda mide adenokarsinomu tanılı hastalarda immunohistokimyasal olarak saptanan HER-2 protein ekspresyonunun

alternatif bir yöntem olan PCR ile çalışılarak gen amplifikasyonu düzeyinde gösterilmesi ve immunohistokimyanın saptayamadığı gri zonda kalan olgulardaki ekspresyonun açığa çıkarılarak tedaviye katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Zhu ve ark. (6) kantitatif PCR ve semi-kantitatif immunohistokimya sonuçlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında mide kanserli vakalarda immunohistokimyasal cerbB2 pozitifliğini %13,38 (57/426), PCR yöntemi ile cerbB2 pozitifliğini %11,7 (46/412) saptamışlardır. Çalışmalarında immunohistokimyasal olarak protein ekspresyonunun gösterilemediği 4 vakada PCR yöntemi ile pozitif ekspresyon bildirmişlerdir. Immunohistokimya ile PCR arasındaki uyumluluk oranını %91 olarak belirtmişlerdir.

Bizim çalışmamızda immunohistokimyasal olarak cerbB2 pozitifliği %23,75 (19/80); PCR yöntemi ile saptanan cerbB2 pozitifliği %26 (21/80) olarak saptanmıştır. İki yöntem arasında uyumluluk oranımız literatür ile uyumlu olarak %89'a yakın bir orandadır.

Çalışmamızda immunohistokimyasal olarak negatiflik izlenen 4 (%3,4) olguda PCR yöntemi ile HER-2 ekspresyonu belirlenmiştir.

Literatürde HER-2 durumunun yaş, cinsiyet, tümör boyutu, histolojik diferansiyasyon derecesi gibi klinikopatolojik parametreler ile ilişkili olmadığı ancak invazyon derinliği, lenf nodülü tutulumu, TNM evresi gibi prognostik parametreler ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.

Yan ve ark. (40) çalışmasında HER-2 durumunun invazyon derinliği, TNM evresi, lenf nodülü tutulumu ve uzak metastaz ile ilişkili olduğu, bunun yanında cinsiyet, yaş, tümör boyutu, histolojik diferansiyasyon ve lokalizasyon gibi klinikopatolojik parametreler ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir.

Zhu ve ark. (6) çalışmasında da benzer olarak invazyon derinliği, lenf nodülü tutulumu ve TNM evresinin HER-2 protein ekspresyonu ile ilişkili olduğu; bunun yanında tümör lokalizasyonu, yaş, cinsiyet, histolojik diferansiyasyon derecesi ile ilişkisi olmadığı gösterilmiştir.

Rajagopal ve ark. (42) yaptıkları çalışmada HER-2 ekspresyonu ile erkek cinsiyet arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptamışlardır ( $p=0.006$ ). Bunu çalışmalarındaki erkek hasta sayısının fazla olmasına ve mide kanserinin erkeklerde daha yaygın görülmesine bağlamışlardır. Aynı çalışmada HER-2 ekspresyonu ile intestinal tip ve orta derecede diferansiye (Grade 2) tümörler arasında da anlamlı ilişki saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda HER-2 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör boyutu, histolojik diferansiyasyon derecesi, lenf nodülü tutulumu, uzak metastaz, vasküler invazyon ve perinöral invazyon varlığı gibi klinikopatolojik parametreler arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

HER-2 gen ekspresyonunda artış izlenmeyen vakalarda pT3 görülme sıklığı çalışmamızda yüksek saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Fakat gruplar arasındaki diğer karşılaştırmalarda istatistiksel bir anlamlılık tespit edilememiştir.

Çalışmamızda lenf nodülü tutulumu, TNM evresi, uzak metastaz gibi parametreler ile anlamlı ilişki bulunamaması çalışma serimizin küçük olmasından kaynaklanabilir. Zhu ve ark. (6) yapmış oldukları çalışma HER-2 durumunu klinikopatolojik parametreler ile kıyaslayan en geniş serili (426 vaka) çalışmalardan biridir. Yan ve ark. (40) çalışması ise birkaç merkezden verileri alınan 476 hastadan oluşmaktadır.

Literatürde HER-2 pozitifliğinin intestinal tip mide karsinomu vakalarında daha yüksek oranda olduğu bildirilmektedir. Kataoka ve ark. (55) çalışmalarında HER-2 pozitifliğini erkek cinsiyet ( $p=0.0048$ ) ve ileri yaş ( $p=0.0309$ ) ile ilişkili bulmuşlardır. Aynı çalışmada intestinal tip mide karsinomunda HER-2, diffüz(%0) ve mikst(%15.4) tiplere göre daha yüksek oranda saptanmıştır (%22.3). Bizim çalışmamızda tümörler intestinal, diffüz, mikst tip olarak spesifiye edilmediği için bu parametre değerlendirilememiştir. Ancak intestinal tip mide kanseri gelişiminde önemli rolü olduğu bilinen H.pilori enfeksiyonu ile HER-2 ekspresyonu arasında çalışmamızda istatistiksel anlamlı ilişki saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

H.pilori'nin Cag patojenite adası, cytotoxin-associated gene A (CagA) tarafından kodlanan bir bakteriyel virulans faktörüdür. HER-2 ekspresyonu ile CagA ilişkisinin moleküler mekanizması hakkında literatürde çok az bilgi bulunmaktadır [56].

Shim ve ark. (56) yaptıkları çalışmada 30 hastaya ait mide kanser dokusunun 17 tanesinde (%56.7) CagA ekspresyonunu göstermişlerdir. Bu vakaların 8 tanesinde (%47) HER-2 gen amplifikasyonu gösterilmiştir. İmmunohistokimyasal olarak HER-2 protein ekspresyonu ise 12 vakada (%40) saptanmıştır. Çalışmalarında CagA pozitifliği ile HER-2 amplifikasyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptamışlardır ( $p < 0.05$ ).

Helikobakter pilori'nin mide kanserine yol açma mekanizmalarından biri de mide epitelyal hücrelerinde oksidatif stres ile ilişkili apoptoz ve DNA hasarına yol açan Spermine Oksidase (SMOX) 'ı upregüle etmesidir [57].

Chaturvedi ve ark.(57) fare ve insanlar üzerinde yaptıkları çok merkezli çalışmada gastrik karsinogenezde SMOX ile EGFR, cerbB2 arasında anlamlı ilişki saptamışlardır.

Sonuç olarak; tümöral dokudaki cerbB2 aktivasyonu ileri evre mide kanserlerinde standart tedavi protokollerinden biri olan Trastuzumab endikasyonunu belirlemek için kullanılan tek biyobelirteçtir [58,59]. Günümüzde HER-2 aktivasyonu rutin pratikte immunohistokimyasal çalışma ve in situ hibridasyon testleri ile belirlenmektedir. Rezeksiyon ve endoskopik girişim sonrasında çıkartılan dokular öncelikle immunohistokimya ile incelenmektedir. Dokuda boyanan HER-2 protein miktarına göre sonuçlar 0, +1, +2 ve +3 olmak üzere dört basamak halinde skorlanmaktadır. Skor 0 ve +1, HER-2 negatif olarak tanımlanmakta ve bu tümörlere sahip hastalarda Trastuzumab tedavisi endikasyonu bulunmamaktadır [60]. İmmunohistokimyasal boyanma skoru +2 saptanması durumunda, ISH yapılması önerilmekte iken immunohistokimyasal boyanma skoru +3 olarak değerlendirilen olgulara Trastuzumab tedavisi uygulanmaktadır. Ancak immunohistokimya ve ISH rutin olarak kullanılmasına rağmen, testlerin uzun

sürmesi, pahalı olması ve çoklu örneklerin analizlerine uygun olmamaları gibi dezavantajları da mevcuttur [61]. Ayrıca her iki yöntem de nitel verilere dayanmakta ve laboratuvarlara göre standardizasyonu değişmektedir. Bu nedenle immunohistokimya ve ISH testlerinin validasyonunu sağlamak amacıyla kantitatif yöntemler uygun olmaktadır.

Kantitatif Real-time PCR, genden transkribe edilen mRNA' ların sayısal verilere dayanarak değerlendirilmesine olanak sağlayan moleküler bir tekniktir [62]. Real-time PCR yöntemi, nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresan sinyalinin ölçülmesiyle, kantitatif sonuç alınabilen bir yöntemdir. Sıcaklık döngüleri ve floresan okunması aynı cihaz içinde ve aynı tüp içinde gerçekleşmektedir. Böylece hedef bölge, herhangi başka bir cihaza ihtiyaç duyulmadan kısa bir süre içinde saptanabilmektedir. Aynı cihaz içerisinde hem çoğaltma işleminin, hem de çoğaltılan ürünleri saptama işleminin yapılabilmesi, testlerin çok daha pratik bir yöntem haline gelmesini sağlamaktadır. Ayrıca tüpler açılmadan test tamamlandığı için kontaminasyon riski de azalmaktadır. Bu yöntem sayesinde tek seferde çok sayıda örnek çalışmak mümkündür. Real-Time PCR' ın en önemli özelliği testlerin optimize yöntemler ile yapılıyor olması ve gen anlatımını sayısal bir değer olarak vermesidir [63].

Sonuç olarak RT-PCR yönteminin; IHK ve ISH yöntemlerine alternatif olabilecek ve birbirlerini tamamlayan yöntemler olduğu gösterilmiştir. Ayrıca RT-PCR yönteminin; gri zonda kalınan ve immunohistokimyasal yöntem ile atlanabilen olguları aydınlayabilecek bir yöntem olduğu literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda gösterilmiştir. Kuşkusuz HER-2 ekspresyonunun tedaviyle olan direkt ilişkisi nedeniyle doğru ve güvenilir değerlendirme şarttır. Çalışmamızda olgu sayısının artırılarak HER-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik prognostik parametreler arasında ilişki saptanabileceği kanısına varılmıştır.



## KAYNAKLAR

- 1.Nagini S., *Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention*. World J Gastrointest Oncol. 2012 Jul 15; 4(7): 156–69.
- 2.Garcia M., Jemal, A., Ward, E. M., Center, M. M., Hao, Y., Siegel, R. L., & Thun, M. J. (2007). Global Cancer Facts & Figures American Cancer Society. Atlanta..
- 3.Yalcin S. *Gastric cancer in Turkey-a bridge between west and East*. Gastrointest Cancer Res. 2009 Jan;3(1):29-32.
- 4.Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. *Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial*. Lancet. 2010 Aug 28;376(9742):687-97.
- 5.Grabsch HI, Tan P. *Gastric cancer pathology and underlying molecular mechanisms*. Digestive Surgery. 2013;30(2):150-8
6. Kepil N, Batur S, Sonmez Wetherilt C, Erdamar Cetin S. *Human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) status evaluation in advanced gastric cancer using immunohistochemistry versus silver in situ hybridization*. Bosn J Basic Med Sci. 2017 May 20;17(2):109-13.
- 6.Zhu GJ, Xu CW, Fang MY, Zhang YP, Li Y. *Detection of Her-2/neu expression in gastric cancer: Quantitative PCR versus immunohistochemistry*.Exp Ther Med. 2014 Nov;8(5):1501-07.
7. Uprak TK, Attaallah W, Çelikel ÇA, Ayrancı G, Yeğen C. *HER-2 incidence in gastric cancer, its association with prognosis and clinicopathological parameters*. Ulus Cerrahi Derg. 2015 Aug 18;31(4):207-13.

8. Mills SE. *Histology for Pathologists*. 4<sup>th</sup> edition. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins; 2012. 633-43
9. Montgomery EA, Voltaggio L. *Biyopsi Yorumları Serisi, Gastrointestinal Traktüs Mukozası BİYopsilerinin Yorumu*, 1. cilt. 2. baskı. Nobel Tıp Kitapevleri;2005. 55-6.
10. Dudek RW. *High-Yield Histopathology*. 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. 148-51.
11. Rosai J (editor). *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Volume 1*. 10th edition. Philadelphia: Elsevier; 2011. 616-47.
12. Mills SE(editor).*Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.1279-313.
13. Williams SJ, McGuckin MA, Gotley DC, Eyre HJ, Sutherland GR, Antalis TM.*Two novel mucin genes down-regulated in colorectal cancer identified by differential display*. Cancer Res. 1999 Aug 15;59(16):4083-9.
14. Corfield AP, Myerscough N, Longman R, Sylvester P, Arul S, Pignatelli M. *Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: new prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease*. Gut. 2000 Oct;47(4):589-94.
15. Mescher AL. *Junqueira's Basic Histology*. 12th edition. Mc Graw-Hill Medical; 2009.
16. Odze RD, Goldblum JR. *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas*. 2th edition. Philadelphia: Elsevier; 2009. 563-79.
17. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser Daire Başkanlığı, <http://kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri.html>
18. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (editors). *World Health Organization Classification of Tumors of the Digestive System*. Lyon 2010, Lyon: IARC pres; 2010. 46-63.

19. Ladeiras-Lopes R, Pereira AK, Nogueira A, et al. *Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies*. *Cancer Causes Control*. 2008 Sep;19(7):689-701.
20. Trédaniel J, Boffetta P, Buiatti E, Saracci R, Hirsch A. *Tobacco smoking and gastric cancer: review and meta-analysis*. *Int J Cancer*. 1997 Aug 7;72(4):565-73.
21. Tsugane S, Sasazuki S. *Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence*. *Gastric Cancer*. 2007;10(2):75-83.
22. Hudler P. *Genetic aspects of gastric cancer instability*. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:761909.
23. Tsukamoto Y, Uchida T, Karnan S, et al. *Genome-wide analysis of DNA copy number alterations and gene expression in gastric cancer*. *J Pathol*. 2008 Dec;216(4):471-82.
24. Panani AD. *Cytogenetic and molecular aspects of gastric cancer: clinical implications*. *Cancer Lett*. 2008 Aug 8;266(2):99-115.
25. Hiyama E, Yokoyama T, Tatsumoto N, et al. *Telomerase activity in gastric cancer*. *Cancer Res*. 1995 Aug 1;55(15):3258-62.
26. Wang K, Kan J, Yuen ST, et al. *Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer*. *Nat Genet*. 2011 Oct 30;43(12):1219-23.
27. Cancer Genome Atlas Research Network. *Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma*. *Nature*. 2014 Sep 11;513(7517):202-9.
28. Zhang J, Huang T, Zhou Y, et al. *The oncogenic role of Epstein-Barr virus-encoded microRNAs in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma*. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2017.
29. Wu C, Zhu Y, Jiang J, Zhao J, Zhang XG, Xu N. *Immunohistochemical localization of programmed death-1 ligand-1*

(PD-L1) in gastric carcinoma and its clinical significance. *Acta Histochem.* 2006;108(1):19-24.

30. Sunakawa Y1, Lenz HJ. *Molecular classification of gastric adenocarcinoma: translating new insights from the cancer genome atlas research network.* *Curr Treat Options Oncol.* 2015 Apr;16(4):17.

31. Choi YY, Bae JM, An JY, et al. *Is microsatellite instability a prognostic marker in gastric cancer?: A systematic review with meta-analysis.* *J Surg Oncol.* 2014 Aug;110(2):129-35.

32. Higgins MJ1, Baselga J. *Targeted therapies for breast cancer.* *J Clin Invest.* 2011 Oct;121(10):3797-803.

33. Maresch J, Schoppmann SF, Thallinger CM, Zielinski CC, Hejna M. Her-2/neu gene amplification and over-expression in stomach and esophageal adenocarcinoma: From pathology to treatment. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2012 Jun;82(3):310-22.

34. Gravalos C, Jimeno A. *HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target.* *Ann Oncol.* 2008 Sep;19(9):1523-9.

35. Hechtman JF, Polydorides AD. Her2/neu gene amplification and protein overexpression in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma: a review of histopathology, diagnostic testing and clinical implications. *Arch Pathol Lab Med.* 2012 Jun;136(6):691-7.

36. Hudis CA. *Trastuzumab—mechanism of action and use in clinical practice.* *N Engl J Med.* 2007 Jul 5;357(1):39-51.

37. Fenoglio-Preiser CM. *Gastrointestinal Pathology: An Atlas and Text.* 3th edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2008.

38. Greenson JK. *Diagnostic Pathology Gastrointestinal.* 2 nd edition. Philadelphia: Elsevier; 2016. 106-200.

39. Greene F, Trotti A, Edge S, Byrd DR, Campton CC, Fritz AG ( eds). *AJCC Cancer Staging Handbook.* 7<sup>th</sup> edition. Springer; 2010

40. Yan SY, Hu Y, Fan JG, Tao GQ, Lu YM, Cai X, Yu BH, Du YQ. Clinicopathologic significance of HER-2/neu protein expression and

gene amplification in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2011 Mar 21;17(11):1501-6.

41. Ananiev J, Gulubova M, Manolova I, Tchernev G. Prognostic significance of HER2/neu expression in gastric cancer. *Wien Klin Wochenschr.* 2011 Jul;123(13-14):450-4.

42. Rajagopal I, Niveditha SR, Sahadev R, Nagappa PK, Rajendra SG. HER 2 Expression in Gastric and Gastro-esophageal junction (GEJ) Adenocarcinomas. *J Clin Diagn Res* 2015 Mar;9(3):EC06-10.

43. Klapper LN, Glathe S, Vaisman N, Hynes NE, Andrews GC, Sela M, Yarden Y. The ErbB-2/HER2 oncoprotein of human carcinomas may function solely as a shared coreceptor for multiple stroma-derived growth factors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 Apr 27;96(9):4995-5000.

44. Sekaran A, Kandagaddala RS, Darisetty S, Lakhtakia S, Ayyagari S, Rao GV, Rebala P, Reddy DB, Reddy DN. Her2 expression in gastric cancer in Indian population- An immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization study. [Indian](#) *J Gastroenterol.* 2012 Jun;31(3):106-10

45. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med.* 2001 Mar 15;344(11):783-92.

46. Ma GF, Liu YM, Gao H, Miao Q, Luo TC, Zeng XQ, Chen SY. Her2 mRNA status contributes to the discrepancy between gene amplification and protein overexpression in gastric cancer. *Dig Dis Sci.* 2014 Feb;59(2):328-35.

47. Albarello L., Pecciarini L., Doglioni C. Her2 testing in gastric cancer. *Adv Anat Pathol*. 2011 Jan;18(1):53-9.
48. Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, Ochiai A, Rüschoff J, Henkel T. Assessment of a Her2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology*. 2008 Jun;52(7):797-805.
49. Pauletti G, Dandekar S, Rong H, Ramos L, Peng H, Seshadri R, Slamon DJ. Assessment of methods for tissue-based detection of the HER-2/neu alteration in human breast cancer: A direct comparison of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry. *J Clin Oncol*. 2000 Nov 1;18(21):3651-64.
50. Eichhorn PJ, Baselga J. HER2 signatures in breast cancer: ready to go to print?. *J Clin Oncol*. 2010 Apr 10;28(11):1809-10.
51. Dowsett M, Bartlett J, Ellis IO, Salter J, Hills M, Mallon E, Watters AD, Cooke T, Paish C, Wencyk PM, Pinder SE. Correlation between immunohistochemistry (HercepTest) and fluorescence in situ hybridization (FISH) for HER-2 in 426 breast carcinomas from 37 centers. *J Pathol*. 2003 Apr;199(4):418-23.
52. Perez EA, Roche PC, Jenkins RB, Reynolds CA, Halling KC, Ingle JN, Wold LE. HER2 testing in patients with breast cancer: poor correlation between weak positivity by immunohistochemistry and gene amplification by fluorescence in situ hybridization. *Mayo Clin Proc*. 2002 Feb;77(2):148-54.
53. Bahreini F, Soltanian AR, Mehdipour P. A meta-analysis on concordance between immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH) to detect HER2 gene over expression in breast cancer. *Breast Cancer*. 2015 Nov;22(6):615-25.
54. Bossard C, Bieche I, Le Doussal V, Lidereau R, Sabourin JC. Real-time RT-PCR:a complementary method to detect HER-2

status in breast carcinoma. *Anticancer Res.* 2005 Nov-Dec;25(6C):4679-83.

55. Kataoka Y, Okabe H, Yoshizawa A, Minamiguchi S, Yoshimura K, Haga H, Sakai Y. HER2 expression and its clinicopathological features in resectable gastric cancer. *Gastric Cancer.* 2013 Jan;16(1):84-93.

56. Shim JH, Yoon JH, Choi SS, Ashktorab H, Smoot DT, Song KY, Nam SW, Lee JY, Park CH, Park WS. The effect of *Helicobacter pylori* CagA on the HER-2 copy number and expression in gastric cancer. *Gene.* 2014 Aug 10;546(2):288-96.

57. Chaturvedi R, Asim M, Piazuelo MB, Yan F, Barry DP, Sierra JC, Delgado AG, Hill S, Casero RA Jr, Bravo LE, Dominguez RL, Correa P, Polk DB, Washington MK, Rose KL, Schey KL, Morgan DR, Peek RM Jr, Wilson KT. Activation of EGFR and ERBB2 by *Helicobacter pylori* results in survival of gastric epithelial cells with DNA damage. *Gastroenterology.* 2014 Jun;146(7):1739-51.e14.

58. [Lordick F.](#), [Al-Batran SE.](#), [Dietel M.](#), Gaiser T, Hofheinz RD, Kirchner T, Kreipe HH, Lorenzen S, Möhler M, Quaas A, Röcken C, Rüschoff J, Tannapfel A, Thuss-Patience P, Baretton G. Her2 testing in gastric cancer: results of a German expert meeting. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2017 May;143(5):835-841.

59. [Yamamoto K.](#), [Maeda S.](#), Uemura M, Miyake M, Hama N, Nishikawa K, Miyamoto A, Omiya H, Miyazaki M, Ikeda M, Hirao M, Takami K, Nakamori S, Sekimoto M. A patient with Her-2 positive Stage IV advanced gastric cancer who received chemotherapy with Trastuzumab plus XP followed by conversion surgery. *Gan To Kagaku Ryoho.* 2016 Nov;43(12):1942-1944.

60. Sauter G, Lee J, Bartlett JM, Slamon DJ, Press MF. Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: biologic and

methodologic considerations. *J Clin Oncol.* 2009 Mar 10;27(8):1323-33.

61. Moerland E, van Hezik RL, van der Aa TC, van Beek MW, van den Brule AJ. Detection of HER2 amplification in breast carcinomas: comparison of Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) and Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) combined with automated spot counting. *Cell Oncol.* 2006;28(4):151-9.

62. Park S, Wang HY, Kim S, Ahn S, Lee D, Cho Y, Park HH, Jung D, Kim SI, Lee H. Quantitative RT-PCR assay of HER2 mRNA expression in formalin-fixed and paraffin-embedded breast cancer tissues. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014 Sep 15;7(10):6752-9.

63. [Pervez A](#), [Riaz SK](#), Mehmood A, Rashid , Arshad Malik MF. Expression analysis of human epidermal growth factor reseptor type 2 transcripts in breast cancer cohort and its association with clinical features. [J Cancer Res Ther.](#) 2016 Apr-Jun;12(2):1036-9.



## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve eğitim sürecimde büyük ilgi ve katkıları olan sayın hocam Doç. Dr. Berna Aytaç VURUŞKAN'a, anabilim dalı başkanımız ve sayın hocamız Prof. Dr. Ülviye YALÇINKAYA'ya, tezimin planlanmadan yazıma kadar olan tüm aşamalarında destek ve katkılarından dolayı sayın hocalarım Prof. Dr. Ömer YERCI ve Doç Dr. Nesrin UĞRAŞ'a, uzmanlık eğitimim süresince ilgi ve desteklerini esirgemeyen, mesleki tecrübe ve bilgilerinden her zaman yararlanma olanağı bulduğum patoloji anabilim dalının tüm diğer saygıdeğer hocalarına, tezime olan katkılarından dolayı Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Berrin TUNCA ve araştırma görevlisi Seçil AK'a; Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Gökhan OCAKOĞLU'na, birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve Patoloji Anabilim Dalı'nın tüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, hayatım boyunca sevgi, emek ve desteklerini bir an bile esirgemeyen aileme ve sevgili eşime teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

11.11.1987 yılında Çankırı'da doğdum. İlköğretimimi Diyarbakır Özel Diken İlkokulu ve Diyarbakır Özel Ortadoğu İlköğretim Okulu'nda; lise eğitimimi Diyarbakır Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2007 yılında başladığım Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2013 yılında mezun oldum. 2013 yılının Aralık ayından beri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimime devam etmekteyim.