



T. C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

MİDE KANSERLİ OLGULARDA KAN VE MİDE LEPTİN SEVİYESİ İLE
MİDE LEPTİN RESEPTÖR, KAN SOLUBL LEPTİN RESEPTÖR,
TNF- α , IL-6 VE SOLUBL IL-1 DECOY (TUZAK) RESEPTÖR
SEVİYELERİNDEKİ DEĞİŞİM

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. IŞIL ÇAKIR

KAYSERİ-2013



T. C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

MİDE KANSERLİ OLGULARDA KAN VE MİDE LEPTİN SEVİYESİ İLE
MİDE LEPTİN RESEPTÖR, KAN SOLUBL LEPTİN RESEPTÖR,
TNF- α , IL-6 VE SOLUBL IL-1 DECOY (TUZAK) RESEPTÖR
SEVİYELERİNDEKİ DEĞİŞİM

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. IŞIL ÇAKIR

Danışman
Prof.Dr.ESER KILIÇ

KAYSERİ 2013

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.MİDE KANSERLERİ	3
2.1.1.Risk faktörleri	3
2.2.YAĞ DOKUSU	5
2.3.LEPTİN	7
2.3.1.Tanımı ve yapısı.....	7
2.3.2.Leptinin etki mekanizması	7
2.3.3.Kan leptin düzeyini etkileyen faktörler.....	10
2.3.4.Leptin reseptörleri (OB-R).....	12
2.3.5.Leptin reseptörleri ve mide	14
2.3.6.Leptinin diğer sistemlere etkileri	14
2.3.7.Leptin ve malignensi	21
2.4.SİTOKİNLER	22
2.4.1.Genel özellikleri	22
2.4.2.Sitokinlerin sınıflandırılması.....	24
2.4.3.Sitokinler ve kanser ilişkili enflamasyon	24
2.4.4.Primer enflamatuvar sitokinler:TNF- α ve IL-1	26
2.4.5.İnterlökin-6 (IL-6).....	31
2.4.6.IL-6 ve kanser	33
2.4.7.Tedavilerin hedefinde sitokinler	35
2.4.8. Solubl reseptörler nedir?	36
2.4.8.1. Solubl IL-1 tuzak reseptör (sIL-1RII) önemi ve mide kanserinde yeri.	37
2.4.8.2. Solubl leptin reseptör (SLR) önemi ve mide kanserinde yeri	38
2.5.SODYUM DODESİL SÜLFAT-POLİAKRİLAMİD JEL ELEKTROFOREZİ (SDS-PAGE).....	38

3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1.GEREÇ.....	46
3.2.ÇALIŞMA GRUBU.....	47
3.3.YÖNTEM:	47
3.3.2.Biyokimyasal çalışma	47
4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	59
5.BULGULAR.....	60
5.1.KLİNİK BULGULAR.....	60
5.2.BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA BULGULARI.....	61
5.2.1.Serum Leptin Düzeyi	61
5.2.2.Mide Leptin Düzeyi	61
5.2.3. Solubl Leptin Reseptör Düzeyi	62
5.2.4. Mide Leptin Reseptör Protein Düzeyi	63
5.2.5. Serum IL-1 Tuzak Reseptör (IL-1RII) Düzeyi	63
5.2.6. Serum TNF- α Düzeyi	64
5.2.7. Serum IL-6 Düzeyi.....	64
5.3.KORELASYON ANALİZLERİ.....	65
6.TARTIŞMA	66
7.KAYNAKLAR	84
8.TEZ ONAY SAYFASI.....	115

TEŞEKKÜR

Asistanlık dönemim süresince eğitimim için her türlü imkanı sağlayan ve bana yol gösteren sayın hocam Prof. Dr. Eser KILIÇ'a,

İhtisasım boyunca desteklerini gördüğüm Tıbbi Biyokimya AD Başkanı'mız sayın Prof. Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU'na ve bütün hocalarıma,

Tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Dahiliye AD Gastroenteroloji Bilim Dalı sayın Prof.Dr. Mevlüt Başkol'a ve yan dal asistanlarına,

Her zaman maddi ve manevi desteğini yanımda hissettiğim eşim Dr.Nuri ÇAKIR'a ve tüm eğitim hayatım boyunca yanımda olan, destek ve sabırlarını esirgemeyen canım anneme, babama, kardeşime ve evlatlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

KISALTMALAR

AGRP	: Agouti-related peptid
APS	: Amonyum persülfat
ARN	: Akuat nukleus
BYD	: Beyaz yağ dokusu
CASPASE-1	: IL-1 converting enzim
CCK	: Kolesistokinin
CEA	: Karsinoembriyonik antijen
CRH	: Kortikotropin salgılayıcı hormon
DMN	: Dorsomedial
EGFR	: Epidermal Growth Faktör Reseptör
FSH	: Follikül stimüle edici hormon
H.pylori	: Helicobacter pylori
IFN	: İnterferon
IL 1	: İnterlökin-1
IL-1Ra	: IL-1 reseptör antagonisti
IL-1RAcP	: IL-1 receptor accessory protein
IL-6	: İnterlökin-6
JAK	: Janus kinaz
KYD	: Kahverengi yağ dokusu
LHA	: Lateral hipotalamik alan
LPL	: Lipoprotein lipaz
MMP	: Matrix degrading enzimleri
MFH	: Mononükleer fagositik hücreler
NF-κB	: Nükleer faktör- kappa B
NPY	: Nöropeptit Y
ObR	: Leptin reseptör
ROI	: Reaktif oksijen molekülleri
POMC	: Pro-opiomelanokortin
PVN	: Paraventriküler nucleus
sIL-1-RII	: Solubl IL-1 decoy (tuzak) reseptör
SLR	: Solubl leptin reseptörü
STAT	: Signal transducers and activators of transcription
TEMED	: N,N,N,N-tetrametiltilediamin
TIR	: Toll/interlökin-1 reseptör
TNF-α	: Tümör nekroz faktör- alfa
UCP	: Uncoupling proteinler
VEGF	: Vasküler endotelial growth faktör
VMN	: Ventromedial

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Yağ hücresine etki eden bazı hormonlar ve yağ hücresinden salgılanan maddeler	5
Şekil 2: Adipoz dokudan salgılanan ve çeşitli metabolik fonksiyon gösteren bazı adipokinler	6
Şekil 3: Leptinin yağ hücresinden salgılandıktan sonra etki yeri	7
Şekil 4: Adiposite ve tokluk sinyalleri	9
Şekil 5: Leptin reseptör izoformları.....	12
Şekil 6: Leptin reseptör sinyali	13
Şekil 7: Leptinin santral ve periferel nöroendokrin etkileri	15
Şekil 8: Leptinin immün-kompetan hücre aktivasyonundaki rolü	16
Şekil 9: Leptinin otoimmünitedeki rolü.....	17
Şekil 10: Leptinin immün ve enflamatuvar cevaptaki rolü	18
Şekil 11: Fosfotidilinozitol 3-kinaz enzimi aracılığıyla insülin ve leptinin intrasellüler sinyali.....	19
Şekil 12: Leptin, insülin ve glukoz homeostazisi	20
Şekil 13: Obezite ilişkili faktörlerin özeti	22
Şekil 14: Sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri, tümör hücreleri arasındaki karşılıklı etkileşimde yol gösterici rol oynar.....	25
Şekil 15: TNF- α 'nın etkileri	27
Şekil 16: IL-1'in ligand ve reseptörleri.	30
Şekil 17: IL-1'in in vivo tümör büyüme ve metastazına etkisi.	31
Şekil 18: Tümör mikroçevresinde IL-1 sinyali.....	32
Şekil 19: IL-6'nın biyolojik aktivitesi	33
Şekil 20: Western blot aparatı.....	41
Şekil 21: Western blot kurulumunun gösterimi.	41
Şekil 22: Western Blot protokolü.	42
Şekil 23: Western blot tayininin gösterimi.....	44
Şekil 24: Serum IL-6 konsantrasyonu standart grafiği.	48
Şekil 25: Lumigen PS-3'ün horseradish peroksidaz ile kimyasal reaksiyonu.....	45
Şekil 26: ECL Western blot prensibi.	45

Şekil 27: Serum leptin konsantrasyonu standart grafiği.....	49
Şekil 28: Mide leptin konsantrasyonu standart grafiği.....	50
Şekil 29: Serum solubl leptin reseptör konsantrasyonu standart grafiği.	51
Şekil 30: Serum TNF- α konsantrasyonu standart grafiği.....	53
Şekil 31: Serum IL-6 konsantrasyonu standart grafiği.	54
Şekil 32: Serum solubl IL-1 decoy (tuzak) reseptör standart grafiği.....	56
Şekil 33: Lowry's protein standart grafiği.....	58
Şekil 34: İnsan midesinde leptin reseptör protein ekspresyonunun Western blot ile demografik olarak gösterilişi	63
Şekil 35: Serum leptin ve leptin reseptör korelasyon eğrisi.....	65

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Ayırıştırıcı (Seperating) ve Kümeleyici (Stacking) Jel.....	40
Tablo 2: Çalışma Gruplarının Yaş ve VKİ Değerleri	60
Tablo 3: Çalışma Gruplarının Serum Leptin Düzeyi Değerleri	61
Tablo 4: Çalışma Gruplarının Mide Leptin Değerleri.....	62
Tablo 5: Çalışma Gruplarının Solubl Leptin Reseptör Düzeyi Değerleri.....	62
Tablo 6: Çalışma Gruplarının Serum IL-1RII Düzeyi Değerleri	64
Tablo 7: Çalışma Gruplarının Serum TNF- α Düzeyi Değerleri	64
Tablo 8: Çalışma Gruplarının Serum IL-6 Düzeyi Değerleri	65

MİDE KANSERLİ OLGULARDA KAN VE MİDE LEPTİN SEVİYESİ İLE MİDE LEPTİN RESEPTÖR, KAN SOLUBL LEPTİN RESEPTÖR, TNF-A, IL-6 VE SOLUBL IL-1 DECOY (TUZAK) RESEPTÖR SEVİYELERİNDEKİ DEĞİŞİM

ÖZET

Amaç: Mide adenokarsinomlu hastalarda mide ve kan leptin ile solubl leptin reseptörü (SLR), mide leptin reseptör protein seviyesi ve TNF- α , IL-6, sIL-1RII seviyelerindeki değişimin ilk defa birlikte değerlendirilerek mide kanserli hastalardaki rolünün, dolayısıyla muhtemel indikatör özelliğinin ortaya konulması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Laboratuvar bulguları ile şüphelenilip endoskopik olarak mide kanseri düşünülen, daha sonra ise histopatolojik olarak mide kanseri tanısı konmuş 30 erkek hasta çalışma kapsamına alındı. Vücut kitle indeksi açısından benzer, normal endoskopik muayene için gastroenteroloji polikliniğe başvuran kişiler arasından seçilen 25 erkek birey kontrol grubunu oluşturdu. Bu gruptan endoskopi sırasında mide biyopsi örnekleri ve endoskopi sonrası açlık tam kan örneği alındı. Hasta grubundan kanserli bölgeden biyopsi için doku alınırken, kanserli bölgenin dışından tümöre komşu normal mide dokusundan yine doku biyopsileri alınarak doku leptin reseptör protein seviyesinin ve doku leptin seviyesinin tayininde 2. bir kontrol olarak kullanıldı. Serum örneklerinde leptin, solubl leptin reseptör, TNF- α , IL-6, solubl IL-1 decoy (tuzak) reseptör seviyeleri ölçüldü.

Bulgular: Serum leptin seviyesi, hasta grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak düşüktü ($p<0.05$), mide leptin düzeylerindeki artış anlamlı değildi ($p>0.05$). Serum solubl leptin reseptör hasta grubunda anlamlı yüksekti ($p<0.05$). Serum IL-1 tuzak

reseptör hasta grubunda daha düşüktü ($p<0.05$). TNF- α ve IL-6 düzeyleri hasta grubunda yüksekti, fark TNF- α düzeylerinde anlamlı iken ($p<0.05$), IL-6 düzeylerinde anlamlı değildi ($p>0.05$). Hasta grubunda doku leptin reseptör düzeyi azalmıştı. Serum leptin ile leptin reseptörü arasında negatif yönde korelasyon bulundu.

Sonuç: Mide adenokarsinomlu hastalarda elde edilen bütün bu değişikliklerin tanı, prognoz ve tedavideki anlamının ortaya konabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Mide kanseri, leptin, Leptin reseptör protein, IL-6, sIL-1RII, TNF α , western blot

BLOOD AND GASTRIC LEPTIN LEVELS AND GASTRIC LEPTIN RECEPTORS, BLOOD SOLUBLE LEPTIN RECEPTORS, TNF- α , IL-6 AND SOLUBLE IL-1 DECOY (TRAP) RECEPTOR LEVELS CHANGING IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

ABSTRACT

Objective: Blood and gastric leptin levels and gastric leptin receptor protein, soluble leptin receptors, TNF- α , IL-6 and soluble IL-1 decoy receptor levels alterations in patients with gastric cancer were investigated together to investigate their relationship and whether their possible role of indicator in gastric patients.

Materials and Methods: 30 male patients were included to the study, who were at the begining according to the laboratory findings and endoscopic examination considered to be suspicious for endoscopic gastric cancer then confirmed with histologically diagnoses as gastric cancer. 25 male dispeptic subjctes, in terms of body mass index similar to patients group, were inculuded to the study as control group.

While biopsy samples were taken from the cancerous region of the gastric tissue, outside of the cancerous region, just adjacent to the this cancerous region, normal gastric tissue biopsy samples were also taken to use as a second control, in addition to the dispeptic subjects for the analysis of gastric tissue leptin receptor protein levels and leptin levels. Leptin, soluble leptin receptor, TNF- α , IL-6, soluble IL-1 decoy receptor levels were measured in serum samples of all.

Results: In patient groups compared to control group; an increase tissue leptin levels, a decrease in tissue leptin receptor protein level, a decrease in serum leptin levels, increases both in serum TNF- α and IL-6 levels and a clear decrease in soluble IL-1 decoy receptor levels were detected.

Conclusion: Evolution of all these results obtained from patients with gastric adenocarcinoma, suggest that the necessity of the evaluation gastric cancer more efficiently, in respect to diagnosis, prognosis and treatment methods for these parameters.

Key words: Gastric cancer, leptin, leptin receptor protein, IL-6, sIL-1RII, TNF- α , western blot

1.GİRİŞ VE AMAÇ

2008 yılı verilerine göre dünya çapında yaklaşık 12.7 milyon yeni kanser vakası ve 7.6 milyon kansere bağlı ölüm meydana geldiği tahmin edilmiştir. Yine 2008 yılı verilerine göre toplam 989,600 yeni mide kanseri vakası ve 738,000 ölüm meydana gelmiş olup bu rakamlar toplam kanser vakalarının %8'ini ve toplam ölümlerin %10'unu oluşturmaktadır. Bu yeni vakaların ve ölümlerin %70'inden fazlası gelişmekte olan ülkelerde meydana gelmiştir (1,2).

Mide kanseri, Japonya dahil Asya ülkelerinde en sık görülen kanser tiplerinden biridir. Kanser türleri içinde sebep olduğu ölüm sayısı bakımından akciğer kanserinden sonra ikinci sıradadır (3).

Son teşhis tekniklerine rağmen mide kanserli hastalar ileri evrede tanı almakta ve beş yıllık sağ kalımları çok düşük ($< \%10$) olmaktadır. Karsinoembriyonik antijeni (CEA) de içeren, kullanılan ve kısmen de etkili olan bazı mide tümör markırlarına rağmen tanı ve teşhisteki gecikme durumu, kısmen, erken evrede teşhis ve hastalığın monitorizasyonundaki spesifik ve sensitif biyomarkırların azlığı ile ilişkilidir (4,5).

Son yıllarda mide kanseri üzerine yapılan çalışmalar, yeni ortaya konulan hormonlar başta olmak üzere hormonlarla indüklenen metabolik değişiklikleri ve kanserle ilişkili immün sistem aktivasyonu ile seviyelerinde meydana gelen değişiklikleri kapsamaktadır. Örneğin; son birkaç yıl içinde yapılan çalışmada, mide kanserli hastalar sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük adiponektin seviyeleri saptanıp, bu durumun yoğun bir mide kanseri riski ile birlikteliğe sahip olabileceği gösterilmiştir (6).

Atrofik gastrit teşhisi için kullanılan serolojik markırlar kombinasyonu pepsinojen I ve II, gastrin ve Helicobacter pylori (H.pylori) antikorları sonuçlarda yüksek spesifite (%95-98) ye sahiptir (7-9). Ancak, intestinal metaplazi ve displazi gibi daha başka prekürsör lezyonlar için bu testlerin sensitivitesi ve spesifitesi daha düşüktür; sırasıyla %66 ve %70 ile %78 ve %65 (10). Bu nedenle, diğer prekürsör lezyonların belirlenmesi için daha iyi markırlara ihtiyaç vardır. Birçok serolojik markır için yaygın düşünce bunların midenin özelleşmiş hücreleri tarafından salgılandığıdır. Bu özelliğe dayanarak, midenin patolojik durumları için yeni bir potansiyel serolojik markır olan leptin bulunmuştur (11). Bununla birlikte; mide leptin reseptör protein düzeyi, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-6 (IL-6) ve solubl IL-1 decoy (tuzak) reseptör (sIL-1-RII) gibi enflamasyon ve anti-enflamasyon markırlarının mide adenokarsinomlu hastalardaki durumu, dolayısıyla rolü, açık değildir. Bu çalışmada, mide adenokarsinomlu hastalarda mide ve kan leptin ile solubl leptin reseptörü (SLR), mide leptin reseptör protein seviyesi ve TNF- α , IL-6, sIL-1RII seviyelerindeki değişimin ilk defa birlikte değerlendirilerek mide kanserli hastalardaki rolünün, dolayısıyla muhtemel indikatör özelliğinin ortaya konulması amaçlandı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.MİDE KANSERLERİ

Mide kanseri sık görülmekle birlikte malign tümörlere bağlı ölümlerin önemli bir nedenidir. Karsinomlar midenin malign tümörlerinin %90-95'ini oluşturur. Diğer mide tümörleri olan lenfomalar %4, karsinoidler %3 ve mezaşimal tümörler %2 oranında görülür. Mide kanserlerinin yaklaşık %90-95'ini adenokarsinomlar oluşturur. Kalanını ise nadir görülen diğer malign kanserler meydana getirir (12,13).

Mide kanseri erkeklerde kadınlardan iki kat daha sık görülmektedir. Hastalığın insidansı ülkeler arasında değişiklik göstermektedir. Japonlarda hastalık epidemik boyutlardadır ve görülme sıklığı 70/100.000'dir. 75 yaş sınırına bu oran % 11 seviyelerine çıkmaktadır. Ülkemizde; erkeklerde görülen tüm kanser türlerinin %8.72'sini oluşturan mide kanseri akciğer kanserini takiben ikinci en sık kanser iken, kadınlarda meme ve kolorektal kanserlerden sonra en sık görülen üçüncü kanserdir ve kadınlarda görülen tüm kanserlerin %6.89'unu oluşturmaktadır. Türkiye'de hastaların ortalama teşhis yaşı 56'dır (14,15).

2.1.1.Risk faktörleri

Hastalığın ailevi olduğuna dair deliller vardır, ancak hastaların yalnızca %4'ünde aile öyküsü vardır. 1953'de Aird, A kan grubu ile mide kanseri arasındaki ilişkiyi tanımlamıştır. A grubunda 0 grubu hastalara göre rölatif riskin 1-2 kat daha fazla olduğunu görmüşlerdir (16).

Hastalık diyet alışkanlıkları ile de ilişkili görünmektedir. Özellikle süt, hayvansal protein ve vitaminlerden fakir, nişastadan zengin düşük kalitede diyetler, ileri derecede tuzlu salamuralar, tütsülenmiş et (benzopiren gibi polisiklik hidrokarbonlar

içerir) ve balıklar hastalık gelişiminden sorumlu tutulmuştur. Yüksek protein diyetleri ile gıda koruyucu olarak veya su ile alınan nitrat ve nitritler, gastrointestinal bakteriler ile nitrozaminlere dönüşebilir. Aklorhidri, nitrozamin oluşumuna predispozisyon sağlar. Nitrozaminlerin de gastrik mukoza için karsinogenik olduğu gösterilmiştir. Kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve displazi gibi prekürsör lezyonlar da mide kanseri için predispozandır (17,18).

1984 yılında Robin Warren ve Barry Marshall, mide biyopsi örneklerinin kültüründe gram negatif bakteriyel patojen olan H.pylori'yi tesbit etmişlerdir (19). 2005 yılında Marshall ve Warren'a bu bakteriyi ve peptik ülserdeki rolünü keşfettikleri için Nobel Tıp Ödülü verilmiştir (20). Son yıllarda yapılan birçok çalışma, H.pylori enfeksiyonunun mide kanseri riskini belirgin olarak arttırdığını göstermiştir. Uemura ve arkadaşları H.pylori ile enfekte olan hastaların %3'ünde, enfekte olmayan hastalarla karşılaştırıldığında, mide kanseri geliştiğini bildirmişlerdir (21).

Hiperplastik polipler, midenin en sık görülen polipleridir. Klasik bilgilerimize göre tümüyle benign lezyonlar olarak kabul edilmelerine karşın, bu tür poliplerde displastik ve karsinomatöz değişikliklerin ortaya çıktığı da bildirilmektedir (22- 24). Özellikle 2 cm çapından büyük olan poliplerde displazi ya da karsinom gelişme riskinin daha fazla olduğu belirtilmektedir. Malign değişiklik sıklığı poliplerin çokluğu ile de doğru orantılıdır (25,26). Tübülovillöz ya da villöz yapıdaki adenomatöz polipler de premaligndir. Tübüler adenomlarda malignite gelişme riski daha azken tübülo-villöz adenomlarda bu risk %33 olarak bildirilir (27).

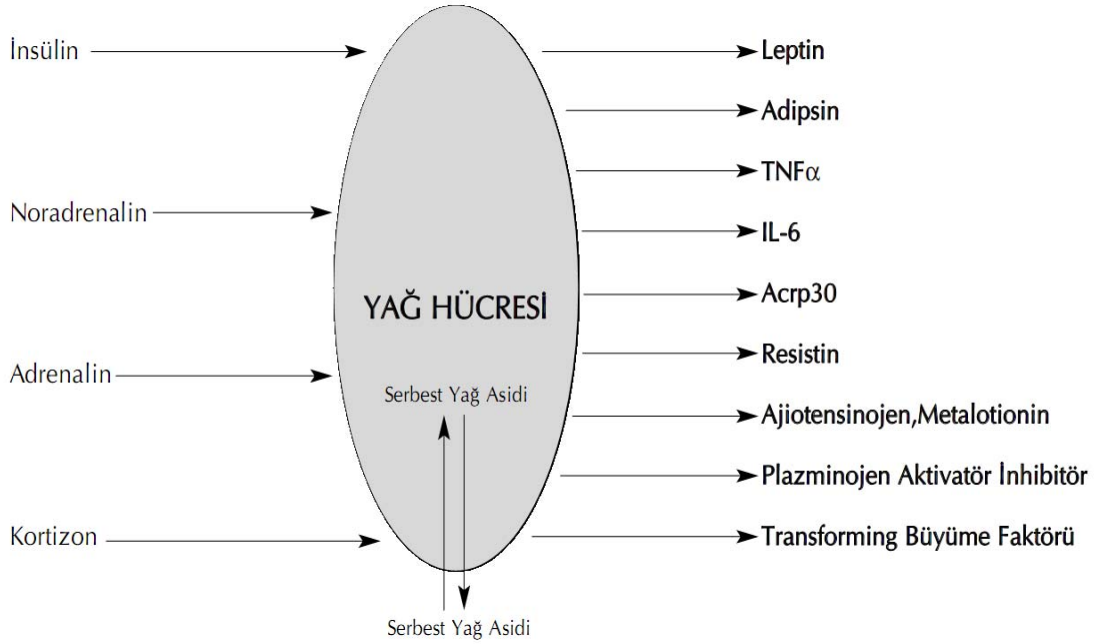
Benign peptik ülser nedeniyle yapılan ameliyattan sonra da bakiye midede kanser geliştiği bildirilmiştir. Bu tümörlere 'güçük karsinomu'da denir, çünkü bu kanserler Billroth I ve Billroth II gastrektomilerden sonra daha sık gelişirler. Gastrik cerrahi sonrası 15 yıldan itibaren mide güçük kanseri gelişme riskinin 1.5 kat arttığı belirtilmektedir (28- 30).

Yapılan çalışmalarda sigara içilmesi kanser riskini 1,5–1,6 kat artırır. Sigara katranında katekol gibi karsinogenik maddeler bulunur. Sigara içiminin daha çok kardiada lokalize intestinal tip mide adenokarsinomu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (31). Yapılan birçok çalışma sigara içiminin H.pylori ilişkili mide kanserinin de gelişim riskini arttırdığını göstermiştir (32). Japon erkek popülasyonuna dayalı yapılan bir prospektif çalışmada sigara içimi ve H.pylori'nin mide kanseri için risk faktörleri olduğu ve bu iki faktörün kombinasyonunun mide kanseri gelişim riskini daha da arttırdığı belirtilmiştir (33). Düşük sosyoekonomik

durum ve eğitim yetersizliği kötü hijyenle ilişkilidir. Özellikle çocuklarda enfeksiyon ajanlarıyla maruziyeti artırır. Bu nedenle düşük sosyoekonomik durumun gastrik kanser gelişim sebeplerinden biri olabileceği yönünde çalışmalar da mevcuttur (34).

2.2.YAĞ DOKUSU

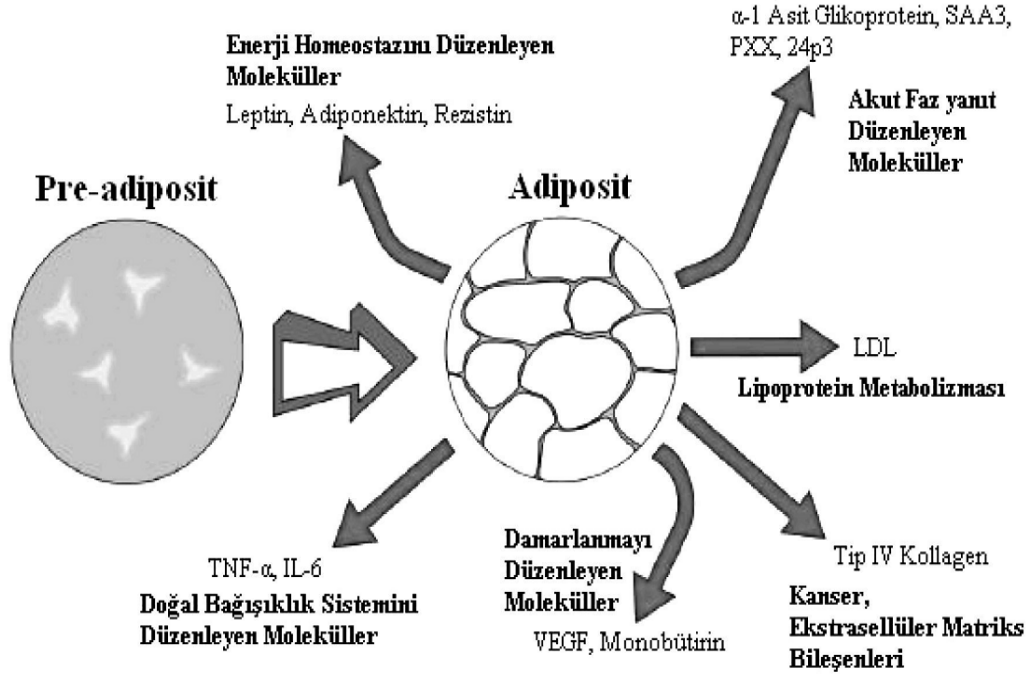
Yağ dokusunun enerji depolamak dışındaki fonksiyonlarının ortaya çıkmasıyla beraber bu dokunun önemi giderek artmaktadır.



Şekil 1: Yağ hücresine etki eden bazı hormonlar ve yağ hücresinden salgılanan maddeler (35).

Vücutta beyaz yağ dokusu (BYD) ve kahverengi yağ dokusu (KYD) olmak üzere iki tip yağ dokusu vardır (36). Normal insan vücudunda total yağ hücresi sayısı yaklaşık 5×10^{10} kadardır. KYD'nun temel görevi enerji harcanmasını ve termogenezi sağlamaktır. KYD insanda neonatal dönemde bulunur. Yenidoğanda ağırlığın % 2-3'ü KYD'dur, ancak sonradan ısı düzenleme mekanizmasının devreye girmesiyle KYD, BYD'na dönüşür. KYD vücutta özellikle toraksta perikard çevresinde, intraskapular aralıkta, sinoatrial düğümde, karında böbrek üstü bezi çevresinde ve intraperitoneal alanda bulunur. BYD ise cilt altı ve intraperitoneal alanda bulunur. Vücut ağırlığının %10-20'sini oluşturur ve trigliserid yani enerji depolar (37, 38). Beyaz adipositler, yağ dokusunu anahtar bir endokrin organ yapan majör sekretuar hücrelerdir. Enflamasyon ilişkili proteinleri (sitokinler, kemokinler ve akut faz reaktanları) salgırlar. Bunlara ilave olarak adiponektin, leptin, vasküler endotelial

growth faktör (VEGF) gibi birçok diğer adipokinler diğer bir ifadeyle adipositlerden türeyen proteinlerde salgılanır. Obezitede bu adipokinlerden bir çoğu belirgin olarak artar ve doku enflamasyonu meydana gelir (39).



Şekil 2: Adipoz dokudan salgılanan ve çeşitli metabolik fonksiyon gösteren bazı adipokinler (40).

Adipokinler, adipositlerden türeyen proteinler olup metabolik ve immünolojik pek çok fonksiyonları vardır. İmmünolojik özelliği olan adipokinleri; sitokinler, kemokinler, akut faz proteinleri ve pro-enflamatuvar medyatörü olan adipokinler olarak sınıflandırmak mümkündür (40).

Yağ dokusundan salgılanan sitokin ve sitokin özelliği olan adipokinler; leptin, TNF- α ve IL-6 olup, fonksiyonel ve yapısal benzerlikler gösterirler:

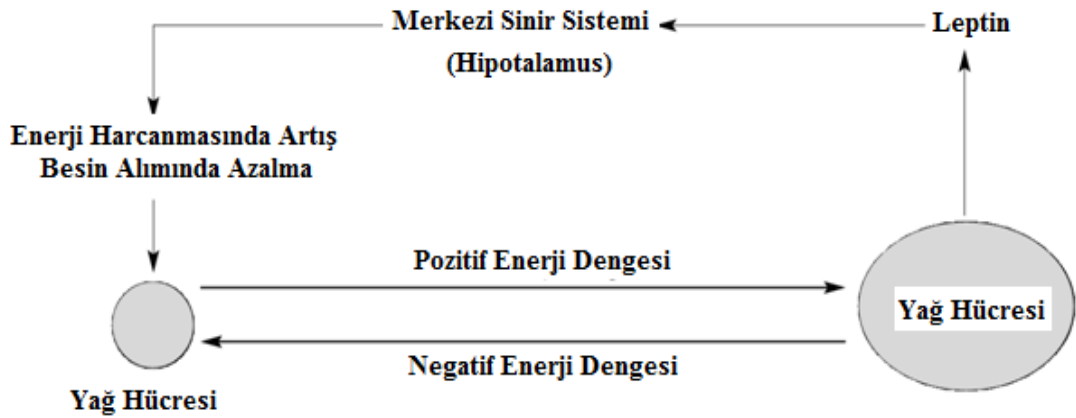
1. Reseptörleri benzer olup hücre içi JAK (Janus kinase) /STAT(signal transducers and activators of transcription) yolağını kullanırlar.
2. Büyüme faktörü özelliğindedirler.
3. Plazmada belirli bir kan seviyesi oluşturmaları.

2.3.LEPTİN

2.3.1.Tanımı ve yapısı

Leptin, yağ hücresinden salgılanan ve negatif feedback mekanizma ile hipotalamusa etki ederek besin alımını baskılayan ve enerji harcanmasını arttıran, 16 kDa ağırlığında bir peptid hormondur (41, 42).

1994 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından keşfedilen leptin, adını Yunanca leptos (ince) kelimesinden alır. Sitokinlere benzeyen leptin, 167 amino asit içeren bir hormondur. Amino terminali 21 amino asitlik sekretuvar sinyal sekansını içerir. Bu sinyal sekansı mikrozomlarda kesik durumdadır. Böylece kanda dolaşan leptin 146 amino asitlik bir proteindir. İnsanlarda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan (7q31) ob/ob geni'nde kodlanmıştır. İlk defa ob/ob mutant farelerde bir mutajenik gen ürünü olarak belirlenmiştir (43, 44). Vücutta başlıca adipoz dokuda sentezlenen leptinin; plasenta, gastrik epitel, iskelet kası, kemik iliği, hipofiz ve meme bezi tarafından da salgılandığı gösterilmiştir (45-50).



Şekil 3: Leptinin yağ hücresinden salgılandıktan sonra etki yeri (35).

2.3.2.Leptinin etki mekanizması

Leptin ilk olarak, hipotalamusta primer fonksiyonu besin alımı ve enerji dengesini regüle etmek olan bir nörohormon olarak tariflenmiştir (43). Periferik organlarda birçok prosesi modüle eder ve immün cevap, fertilité ve hematopoez üzerinde etkilidir. Hücresel düzeyde, hedef dokuya bağlı olarak leptin; mitojen, sağkalım faktörü, metabolik regülatör veya anjiyogenik faktör olarak fonksiyon görür (51).

Ogunwobi ve Beales, leptinin Epidermal Growth Faktör Reseptör (EGFR) sistem aktivasyonu aracılığıyla proliferasyonu sitümüle ettiğini bildirmişlerdir (52).

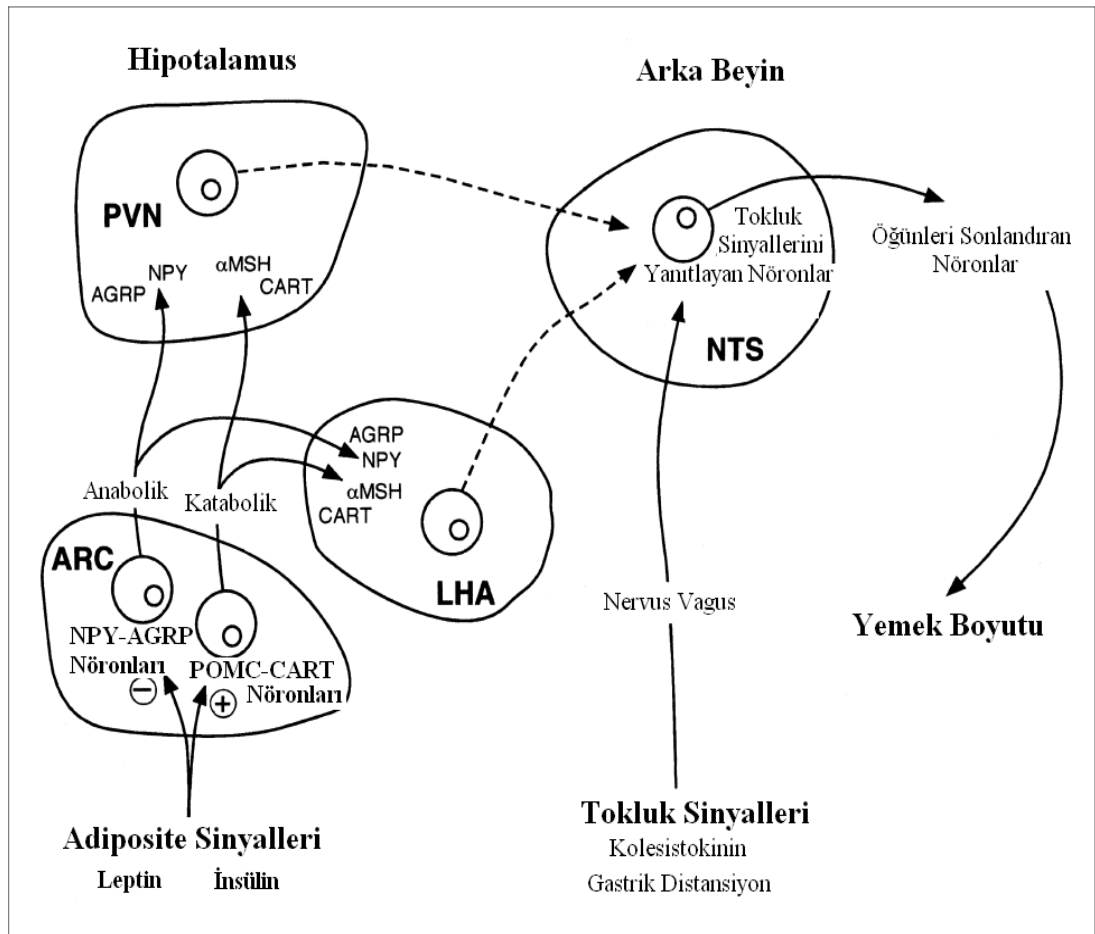
İştah regülasyonu ve enerji homeostazisinde anahtar rol oynar. Enerji homeostazisindeki görevini hipotalamus arkuat nukleus (ARN)'ları, ventromedial (VMN) ve dorsomedial (DMN) hipotalamusta bulunan reseptörü (Ob-Rb) aracılığı ile yapar. Leptinin ana etki mekanizması, birçok hipofizer hormonun regülasyonunda görev alan ve asıl etkisi iştahı arttırmak olan nöropeptit Y'nin (NPY) arkuat nukleus'tan ekspresyonunu ve salınımını inhibe etmektir. Böylece, enerji harcanmasını arttırırken besin alımını azaltır (53). Leptin; kas, karaciğer ve yağ hücresinde glikoneojenezi arttırırken glukojenolizi azaltarak glukoz metabolizmasına katılır. Plazma leptin miktarı artarsa, besin alımı, lipogenez azalır ve enerji harcaması, lipoliz, insüline hassasiyet artar (54).

Leptin, vücut yağ kitlesi ile orantılı olarak dolaşımda bulunur ve santral sinir sistemine de plazma seviyeleri ile orantılı olarak geçer. Yapılan çalışmalar leptinin diğer bir takım mediyatörler ile de etkileşim içinde olduğunu ve kompleks bir iletişim ağı olduğunu göstermiştir (55, 56). Bu mediyatörler başlıca anabolik ve katabolik olarak ikiye ayrılabilirler. Anabolik olanlar (NPY gibi) günlük gıda alımını arttırdığı gibi enerji harcanmasını da azaltarak pozitif enerji dengesine neden olurlar. Katabolik olanlar ise gıda alımını azaltırlar ve enerji harcanmasını arttırırlar. Katabolik mediyatörlerden ilk tanımlanan ve en önemli olanı bir melanokortin ailesi üyesi olan α -MSH, pro-opiomelanokortin (POMC) prekürsöründen oluşan bir moleküldür ve melanokortin reseptör ailesinin birçok üyesi için liganddır (23, 57).

Enerji homeostazisinde nukleus arkuatus nöronlarının aktiviteleri de farklıdır. Örneğin; paraventriküler nucleus (PVN) lezyonları obezite ile sonuçlanırken (58), lateral hipotalamik alan (LHA) lezyonları düşük vücut kilosunu korumaya yönelik olarak anoreksi ile sonuçlanır (59). Böylece nüleus arkuatus nöronları leptin sinyallerini bu iki nörona ulaştırırken, iki nöron arasında koordinasyon da sağlanmış olmaktadır (57). Kilo kaybına yanıt olarak LHA nöronları uygun şekilde aktive edilir ve beraberinde PVN nöronlarından anoreksijenik sinyal iletiminde azalma ile beraber gıda alımı da arttırılır ve enerji harcanımı azaltılır. Böylece yağ depoları doldurularak kilo alımı sağlanmaya çalışılır. Tersine PVN nöronlarından artmış sinyal iletimi ile gıda alımı azalır (iştah kaybı), enerji harcanımı artar ve yağ depolarında azalma olur (60- 62). Sonuçta leptin, beyinde kilo alımına neden olan anabolik sinyal iletimini

inhibe, enerji harcanmasını arttıran katabolik sinyal iletimini aktive ederek fazla kilo alımına engel olur.

Leptinden başka gastrointestinal sistemden de öğün boyutunu ve sıklığını düzenlemek için beyine sinyaller gelir. Bunların bir kısmı direkt olarak gastrointestinal traktusun gerilmesi sonucu mekanik impulslarla gelirken, büyük çoğunluğu vagus sinirinin afferent dalları ile ulaşır (57, 63). Vagusla ulaşan hormonal doygunluk sinyalinden ilk bulunanı ve en önemlisi kolesistokinin (CCK) dir (63). Leptin aynı zamanda kolesistokinin ile uyum içinde çalışmaktadır. CCK'ya olan duyarlılığı artırır ve böylece öğün hacmi azaltılmış olur (64- 66).



Şekil 4: Adiposite ve tokluk sinyalleri (57).

İnsülin ve leptin hipotalamusun arkuat nukleusunda (ARN) rol alan adiposite sinyalleridir. Bunlar, Nöropeptid Y/agouti-related peptid (NPY/AGRP) nöronlarının desteklediği anabolik durumu (besin alımında artış, enerji harcanımında azalış) inhibe ederlerken, pro-opiomelanokortin/ kokain ve amfetamin regüle transkript (POMC/CART) nöronlarının desteklediği katabolik etkileri (anoreksi, enerji harcanımında artış) stimüle ederler.

2.3.3.Kan leptin düzeyini etkileyen faktörler

İştahı azaltan ve enerji harcamasını arttıran leptin hormonunun obez kişilerde teorik olarak daha az olması beklenirken farklı sonuçlar elde edilmiştir. Obezlerde normal kişilere göre serum leptin düzeyleri belirgin olarak yüksektir. Bu durumun obezlerde leptine karşı gelişen bir duyarsızlığa bağlı olduğu düşünülmektedir (67, 68). Obez kadın ve erkeklerde leptin düzeyi ile VKİ arasında pozitif bir ilişki gösterilmiştir. Ancak normal kilolularda bu ilişki gösterilememiştir (69- 71).

Enteresan olarak, 24 saatlik açlık leptin düzeyini % 30 azaltırken, aşırı beslenme 12 saat içinde bazal leptin düzeyini % 50 artırır (72).

Kan leptin düzeyini etkileyen faktörlerden bir diğeri cinsiyettir. İnsanda leptin ölçümlerinin ilk raporlarında leptin düzeyleri bakımından ciddi bir cinsiyet farkı olduğu belirtilmiştir (73, 74).

Leptin düzeyleri kadınlarda aynı vücut kitle indeksi (VKİ)'ne sahip erkeklerden iki ile üç kat daha yüksektir (67, 75). Bu durum kadınlarda yağ dokusu fazlalığı ve subkutan (cilt altı) / visseral yağ oranının daha fazla olması ile açıklanmaktadır (76). Çünkü, serum leptin düzeyi yağ kütlesiyle, *özellikle de daha fazla leptin sekrete ettiği gösterilen subkutan yağ kütlesiyle güçlü ilişkilidir*; leptin mRNA'sı, deri altı yağ dokusunda viseral yağ dokusuna göre daha fazla bulunmuştur. *Erkeklerde ise leptin düzeyinin en önemli belirleyicisi kadınlardaki gibi VKİ değil, bel çevresidir* (77).

Cinsiyet farkı çocuklarda da gösterilmiştir: leptin düzeyi kızlarda her zaman erkeklerden daha fazladır. Bu fark, kord kanında ölçüm yapıldığında yenidoğanda bile bu şekilde görülmüştür (78, 79).

Leptin, esas olarak adipositlerce üretilir, fakat pepsinojen I'e benzer olarak gastrik şef hücreler de bir leptin kaynağıdır (48, 80).

Kanda serbest ve proteine bağlı olmak üzere iki şekilde bulunurken leptinin aktivitesinden serbest formunun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda obez bireylerde serumdaki leptinin büyük kısmının serbest formda olduğu tespit edilmiştir (81-83).

Ob geni 3 egzon ve 2 intron'dan oluşmuştur ve glukokortikoid yanıt elemanı ile birkaç cAMP yanıt elemanı içerir. Yağ dokusundaki Ob mRNA'nın turnover hızı çok yüksektir (yarı ömrü yaklaşık 2 saat) (84).

Leptinin dolaşımdaki yarı ömrü yaklaşık 30 dakikadır ve pulsatif olarak yemeklerden 2-3 saat sonra salgılanır. Diurnal bir ritmi vardır ve sabah erken saatlerde pik yaparken, öğleden sonra en düşük düzeylere iner (85).

Leptin düzeyinin ana belirleyicisi vücut yağ kitlesi ve vücut kütle indeksi (VKİ) olsa da, bir çok faktör leptinin salınmasında rol almaktadır. İnsulin (86), glukokortikoidler (87), prolaktin (88), cerrahi stres ve aşırı yeme-obezite (89) adipoz dokudan leptin sentezini stimüle ederken; β -adrenerjik agonistler, androjenler (89), tiroid hormonları (90), büyüme hormonu (91), somatostatin (92), serbest yağ asitleri (93), uzun süre açlık (89), soğuğa maruz kalma (94) ve katekolaminler (95) leptin salınımı üzerine baskılayıcı etki gösterirler. Enfeksiyon, endotoksin, sitokinler, *TNF- α* ve *IL-1* leptin üretimini uyarır (54, 96).

In vitro çalışmalarda adipoz dokudan leptin sekresyonunun kadın-erkek arasında farklı olduğu, kadınlarda adipoz dokudan spontan sekresyonun erkeklerden daha yüksek olduğu (97) ve yine kadınlarda subkutan / omental leptin mRNA ekspresyonu oranının daha yüksek (98) olduğu gösterilmiştir. Dahası, kadınlarda serebrospinal leptin düzeyleri, muhtemelen serebrospinal sıvıya geçen artmış leptin transportu nedeniyle, daha yüksektir (99).

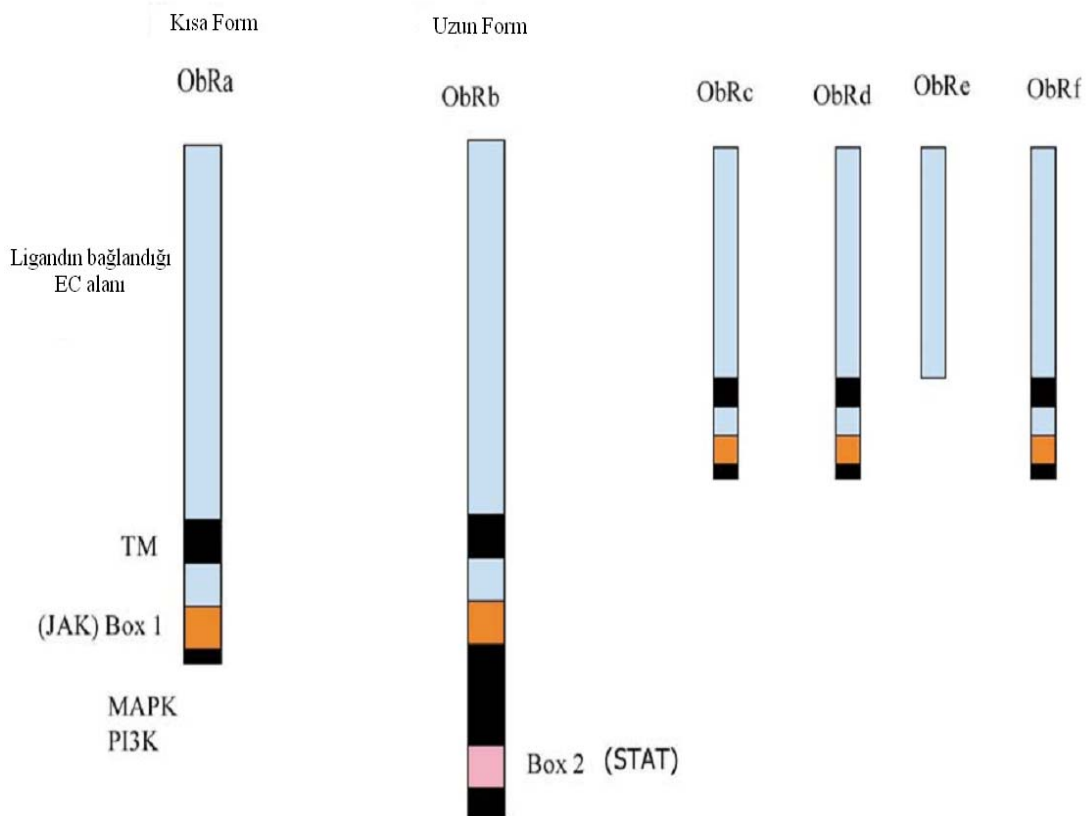
Bu bilgilerle, adiposite dışında seks steroidleri gibi diğer faktörlerin bu cinsiyet farkında rol oynayabileceği bildirilmiştir. Östrojenlerin adipositlerden leptin salınımını stimüle ettiği *in vitro* çalışma ile gösterilmiştir (100, 101). Bu etki kadınlardan alınan adipositlerde gösterilmiş, erkeklerden alınan adipositlerde ise gösterilememiştir (102). Overektomize ratlarda leptin düzeyi düşerken, östradiol suplementasyonu ile düzey normale geri dönmektedir (101, 103). İnsan da *in vitro* fertilizasyon programının başlangıcında eksojen follikül stimüle edici hormon (FSH) ile birlikte östrojen verilmesi ile leptin düzeyleri yükselmektedir (104, 105).

Diğer taraftan androjenler, leptin sekresyonu üzerinde inhibitor etkiye sahiptir (106). Adipoz hücrelerinden leptin mRNA ekspresyonu ve sekresyonunu testostere süprese etmektedir. Ratlara testostere uygulanması leptin mRNA ekspresyonu düşürmekte ancak dolaşımdaki leptin düzeyini değiştirmemektedir (107). Erkek vücut geliştiricilerin kullandıkları anabolik androjenik steroidler, leptin düzeylerini belirgin olarak düşürmektedirler (108). Böylece, vücut kompozisyonu ve yağ dağılımına ek olarak androjenlerin süpresif etkileri leptin düzeylerindeki cinsiyet farkını kısmen açıklayabilmektedir (109).

2.3.4. Leptin reseptörleri (OB-R)

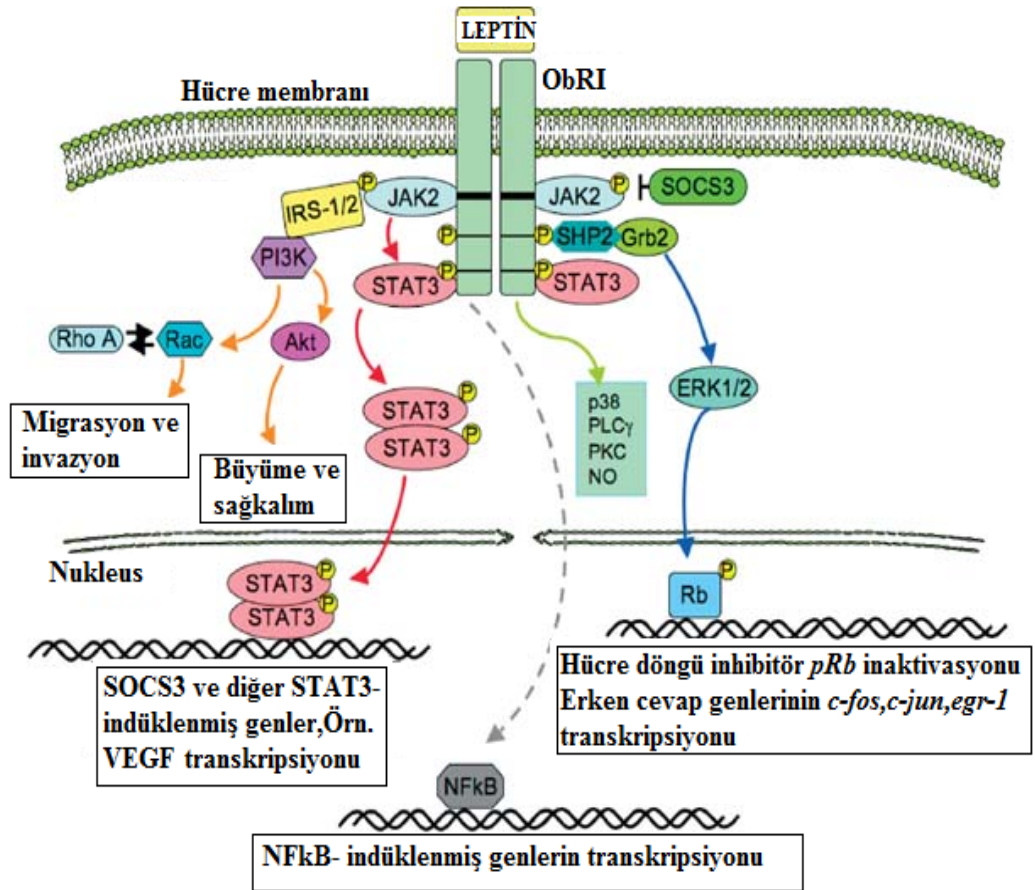
Leptin kendi hormonal etkilerini ObR denen spesifik transmembran reseptörüne bağlanarak ortaya koyar. Leptin reseptörleri, Tartaglia ve ark. tarafından, farelerde bir ekspresyon klonlama stratejisi kullanılarak tanımlanan diyabet (db) geninin ürünleridir (110). Leptin reseptörleri, JAK olarak bilinen protein sınıfı ile ilişkili, klas 1 sitokin ailesine dahildir (111).

Leptin reseptör geni en az 6 farklı izoform (ObRa – ObRf) oluşturmak için alternatif olarak raptedilmiştir. Bütün izoformlar, amino terminallerinde 816 amino asitlik özdeş bir ekstrasellüler ligand bağlayıcı alana sahiptir, ancak C-terminaldeki intrasellüler alan farklıdır. ObRa, ObRb, ObRc, ObRd and ObRf 34 amino asitlik transmembran alanı içerirken, ObRe'nin membranı geçen alanından önce uçları kesilmiştir ve sanki gizlenmiş gibi görünmektedir (112). *ObRb*, 302 rezidü intrasellüler alanı olan tek uzun form iken diğerleri kısa (32-97 amino asit) intrasellüler alana sahiptir (113).



Şekil 5: Leptin reseptör izoformları. EC – ekstrasellüler alan, TM – transmembran alanı (44).

ObRb, baskın olarak beyinde eksprese edilir ancak periferik dokularda (iskelet kası, adipositler, mide ve karaciğer) daha düşük düzeyde bulunmaktadır. Kısa leptin reseptörleri transport ve/veya klirens rolü gördükleri koroid pleksus, vasküler endotel ve böbrek, karaciğer, mide, akciğer ve gonadlar gibi periferik dokularda eksprese edilirler (114, 115). Beyin kapillerleri ve pleksus koroideusda OB-Ra reseptörlerinin bol olarak bulunması, kısa form reseptörlerin leptinin merkezi sinir sistemine transportunda önemli görevleri olduğunu düşündürmektedir. OB-Ra, solubl reseptör kaynağı olarak da rol oynar (116). Beyin dışı dokularda eksprese edilen ObRb miktarı, total ObRb miktarının sadece küçük bir kısmıdır (117). ObR, intrinsik tirozin kinaz alanına sahip değildir bu nedenle sitoplazmik kinazlara, esas olarak da JAK ailesinin bir üyesi olan JAK2'ye bağlanır (118).



Şekil 6: Leptin reseptör sinyali (121).

Kısa form leptin reseptörleri JAK bağlayıcı alana sahiptir fakat sadece uzun form leptin reseptörü, ObRb, STAT'ların aktivasyonu için intrasellüler motiflere ihtiyaç duyar. ObRb'nin aktivasyonu ve daha küçük boyutta da ObRa, MAP kinaz gibi

STAT'dan başka JAK bağımlı sinyal yollarını da aktive eder (119). Leptin etkisindeki bu farklı sinyal yollarının göreceli önemi hala bilinmemektedir (44).

Farelerde matür reseptörler 1142 amino asitten oluşan 81 kDa ağırlığında Tip I (ekstrasellüler N- terminal) transmembran proteinidirler. 817 amino asit içeren ekstrasellüler segment, 21 amino asit içeren transmembranik bölge ve 302 amino asit içeren sitoplazmik kuyruk olmak üzere 3 bölgeden oluşurlar. İnsan, fare ve sıçan reseptörleri uzunluk bakımından birbirleri ile benzerdirler. Farelerdeki ekstrasellüler ve sitoplazmik segmentler insandaki reseptörler ile kıyaslandığında sırasıyla %77 ve %72 oranında benzerlik gösterir. İnsanlarda ekstrasellüler segment Trp-Ser-X-Trp-Ser motifleri içerirken, sitoplazmik kuyruk da STAT ve JAK etkileşimi sağlayan sekanslara sahiptir (120).

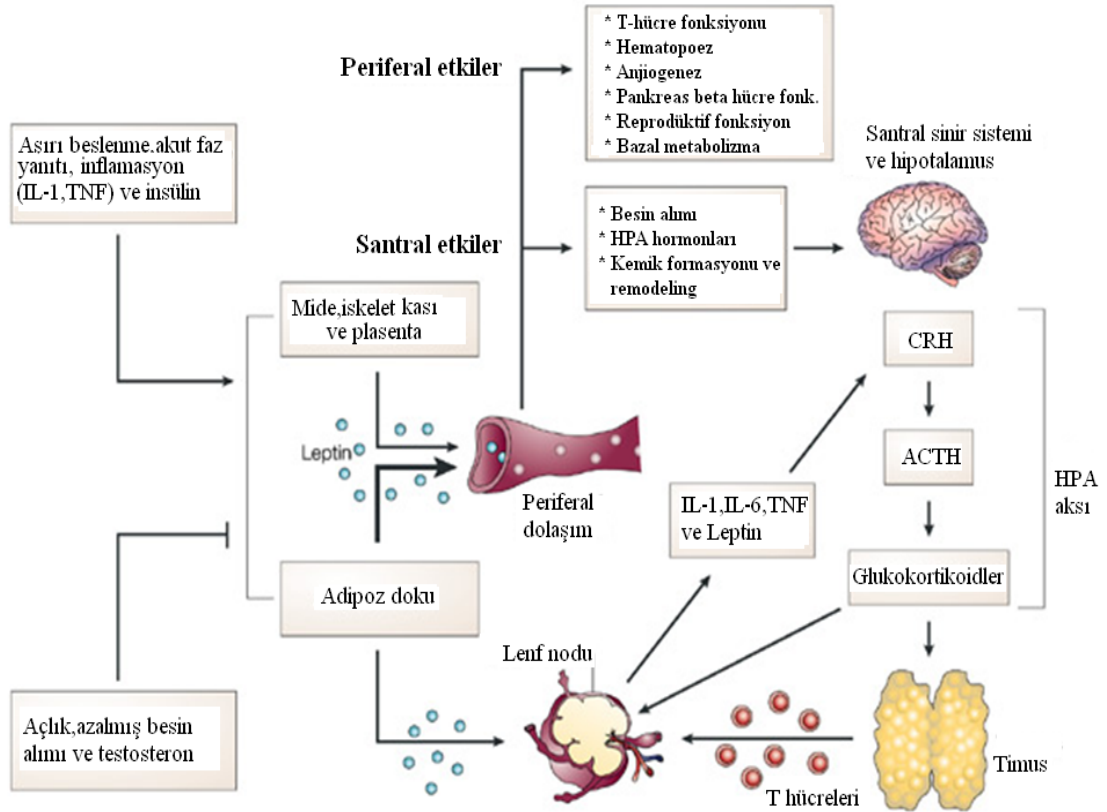
2.3.5.Leptin reseptörleri ve mide

Daha önce Bado ve arkadaşlarının ratlarda gösterdiği gibi (48), leptin reseptörü insan mide mukozasında da gösterilmiştir (122), böylece leptinin insanda mide kaynaklı bir protein olduğu kanıtlanmıştır. *Sobhani ve arkadaşları yaptıkları çalışmada immüno blot yöntemiyle insan midesinin leptin reseptörünün uzun formunu eksprese ettiğini göstermişlerdir* (122).

Endojen gastrik leptin, gastrointestinal sistemde otokrin ve/veya parakrin yollarla gastrointestinal hormon gibi davranır ve sindirimin fizyolojik aktivitesinde, kısa zamanlı öğün büyüklüğü kontrolünde, gastrik mukozal hücre korunmasında ve beslenmede, gastrik asit ve gastrik hormon sekresyonunun regülasyonunda ve intestinal transportun modülasyonunda önemli birer rol oynar (123).

2.3.6.Leptinin diğer sistemlere etkileri

Leptinin vücuttaki başlıca rolü, beyin (özellikle hipotalamus) üzerine negatif 'feedback' etki ile gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenlemek ve obezite gelişmesini engellemektir (124). Ayrıca, metabolizmanın düzenlenmesi (125), cinsel gelişim (126), üreme (127), hematopoez (128), immünite (129), gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesi (48), sempatik sinir sistemi aktivasyonu (124), anjiyogenez (130) ve osteogenezisde (131) de çok önemli roller olduğu saptanmıştır.

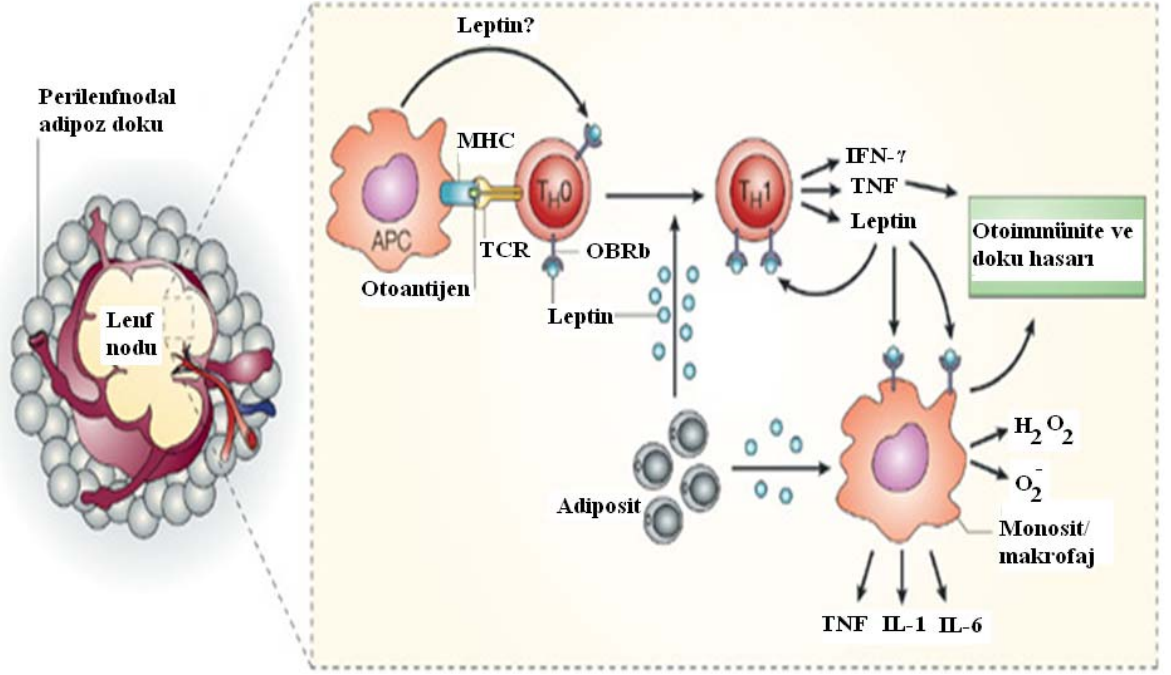


Şekil 7: Leptinin santral ve periferel nöroendokrin etkileri (132).

2.3.6.1. Leptin ve immün sistem

Leptin doğal ve edinsel immunitede önemli rol oynamaktadır. İnfeksiyon/inflamasyon durumlarında konağın leptin düzeyleri artar ve anti-inflamatuvar etki gösterir. *İnfeksiyonlar esnasında gözlenen anorekside TNF- α , IL-1, ve IL-6 'nın yanı sıra, artan leptin seviyesinin de etkili olduğuna inanılmaktadır* (133). Leptinin, immün sistemde genel olarak etkisi; proinflamatuvar etki, proinflamatuvar hücrelerin aktivasyonu, Th-1 cevabının desteklenmesi ve TNF- α , IL-2 veya IL-6 gibi diğer proinflamatuvar sitokinlerin üretimine aracılık edilmesi şeklindedir. Leptin reseptörü de proinflamatuvar sinyallerle upregüle edilmektedir. (134).

Leptin ayrıca monosit/makrofajlardan sitokin üretimini modüle eder. Leptinin IL-1 α üretimini hem indüklediği hem de up-regüle ettiği fare makrofaj hücre hattında gösterilmiştir (135).



Şekil 9: Leptinin otoimmünitedeki rolü (132).

Leptinin, eritropoetinin eritrositler üzerindeki uyarıcı etkisini artırarak kan yapımını stimüle ettiği, trombosit agregasyonu ve tromboziste rol aldığı bildirilmiştir. Leptinin özellikle vücut savunmasında aktif rol alan hücrelere pozitif yönde etki ettiği ve immün yanıtı maximum seviyede tuttuğu bilinmektedir.

Son çalışmalar leptinin hematopoezin çok erken safhalarında sitokinlerle beraber özellikle T hücreleri ve makrofajlar başta olmak üzere bir çok hematopoetik hücrenin gelişmesini etkilediği gösterilmiştir (144, 145).

2.3.6.3. Leptin ve kemik metabolizması

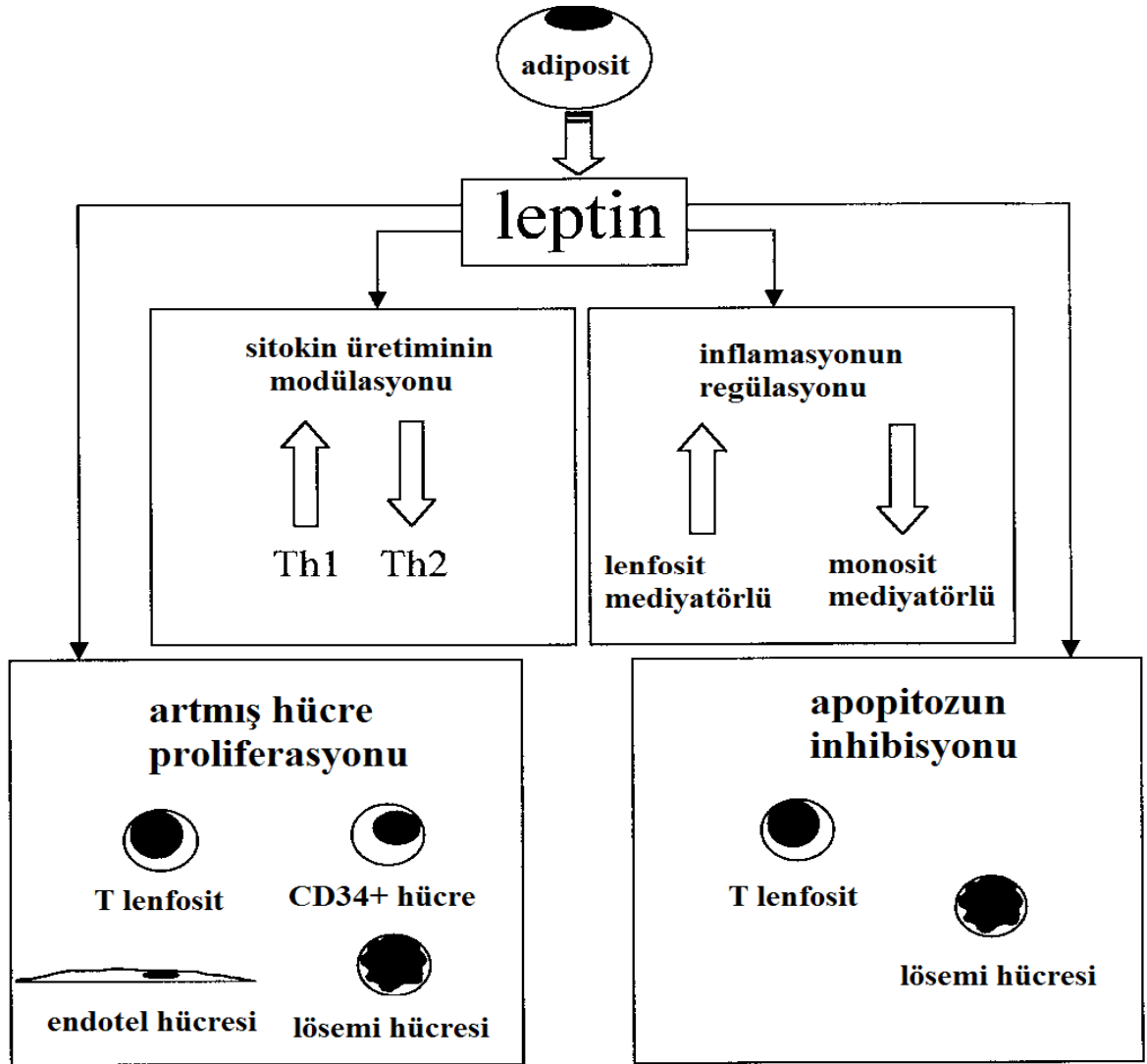
In vitro sıçan kemik iliği kültürlerinde leptin, bir çok mineralize olmuş kemik nodülünün artışı sağlamıştır (146). İnsanlarda leptin seviyelerinin artmış kemik kitlesi ve kemik oluşum hızı ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (147).

2.3.6.4. Leptin ve anjiyogenez

İnsan endotelial hücrelerinde leptin reseptörlerinin olduğu ve leptinin anjiyogenezisi hem *in vitro* hem de *in vivo* indüklediği saptanmıştır (148).

Leptinin burada bir lokal regülatör olarak davrandığı ileri sürülmüştür. Bunun nedeni; obezitenin gelişme ve düzelme (zayıflama) fazlarında leptindeki azalma ve

artmalara paralel olarak yağ dokusunun vaskülaritesinde de fizyolojik olarak artmalar ve azalmalar olduğunun saptanmasıdır (149).



Şekil 10: Leptinin immün ve enflamatuvar cevaptaki rolü (143).

2.3.6.5. Leptin ve termogenez

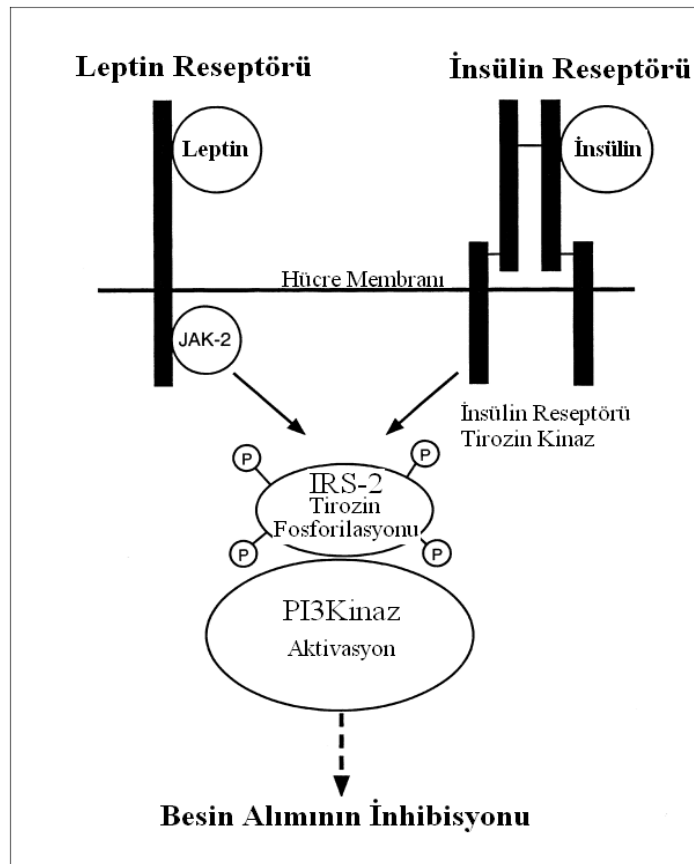
Leptinin enerji harcanmasında yaptığı en önemli etki termogenezisde artış sağlamaktır (150, 151). Tiroid hormonlarının termogenezi arttırarak enerji metabolizmasında düzenleyici rol oynadıkları bilinmektedir. Tiroid hormonları UCP2 ve UCP3 denen uncoupling proteinlerin (UCP) ekspresyonunu güçlü bir şekilde uyarırlar, böylece daha fazla ısıнын oluşmasını sağlarlar (48). Leptin tiroid hormonlarının seviyesini ve sempatik sinir sisteminin aktivasyonunu arttırarak daha fazla UCP seviyelerinin oluşmasını sağlar ve termogenezisi arttırır (152). Bu şekilde

iştah azaltılarak obezite gelişimi önlendiği gibi enerji harcanması da artırılmış olmaktadır.

2.3.6.6. Leptin ve insülin metabolizması

Serum leptin düzeyleri, tip 1 ve tip 2 diyabetik hastalarda insülin tedavisi ile artmaktadır (153, 154).

Korbonits ve arkadaşları, kronik yüksek insülinemisi olan insülinomalı bir hastanın belirgin yüksek leptin düzeylerinin cerrahi tedavinin ardından düştüğünü, kronik hiperinsülineminin leptin ekspresyonunu arttırdığını belirtmişlerdir (155).



Şekil 11: Fosfatidilinozitol 3-kinaz enzimi aracılığıyla insülin ve leptinin intrasellüler sinyali.

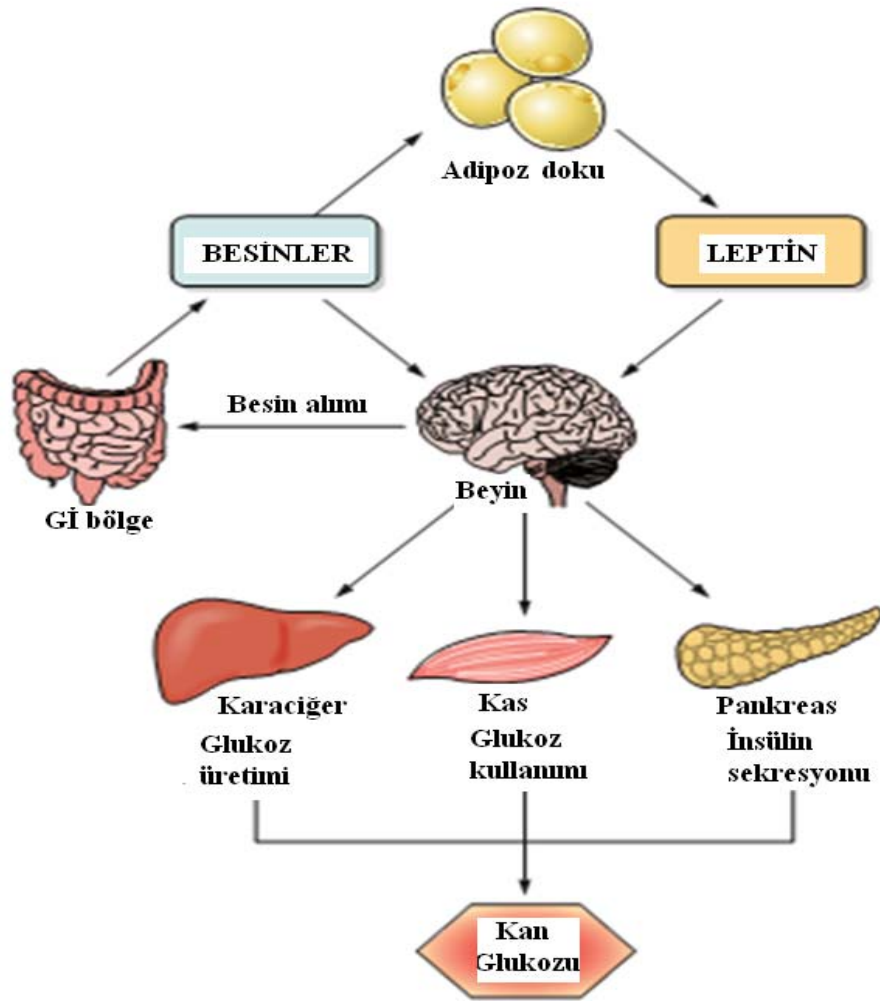
Leptin, reseptörünün uzun formuna bağlanır. Böylece reseptörünün sitoplazmik kısmının, tirozin kinaz enzimi Janus kinaz-ile işbirliği sağlanır (100).

Leptin reseptörünün karaciğer, iskelet kası ve adipositlerde eksprese edilmesi leptinin bu üç klasik insülin hedef dokularında ve bu dokulara insülin cevabında muhtemel etkisinin olduğunu göstermektedir (109).

2.3.6.7. Gastrointestinal sistem ve leptin

Midede özellikle fundus bölgesinde yoğun olmak üzere leptin reseptörleri ve mRNA'sı bulunmuştur. Gastroprotektif etkisiyle midedeki gastrik lezyonları azalttığı gösterilmiştir. İnce barsakta ve daha çok jejunumda leptin reseptörleri bulunmaktadır.

Leptin, NPY yapımını inhibe ederek iştahı azaltır, dolayısı ile gıda alımı azalır (48) ancak plazma leptin konsantrasyonunun makrobesinler tarafından regüle edildiği bilinmemektedir. Ayrıca, pentagastrin veya sekretinin intravenöz infüzyonunun dolaşımdaki leptin seviyelerini arttırdığı, buna paralel olarak da mide içeriğine leptin salınımını arttırdığı rapor edilmiştir (156). Bununla birlikte mide fonksiyonlarının kontrolünden sorumlu olan nöronların direkt olarak leptin tarafından etkilendiği bildirilmiştir (157).



Şekil 12: Leptin, insülin ve glukoz homeostazisi (158).

Temel olarak gastrointestinal hareketleri kontrol eden myenterik pleksusta da leptinin varlığı gösterilmektedir. Ayrıca intestinal 1 hücrelerinin beslenmeye karşı saldığı CCK ile leptinin sinerjistik etki gösterip beslenmenin düzenlenmesinde kısa süreli regülasyon ve/veya uzun süreli regülasyonda rol oynayabileceğini göstermektedir (159).

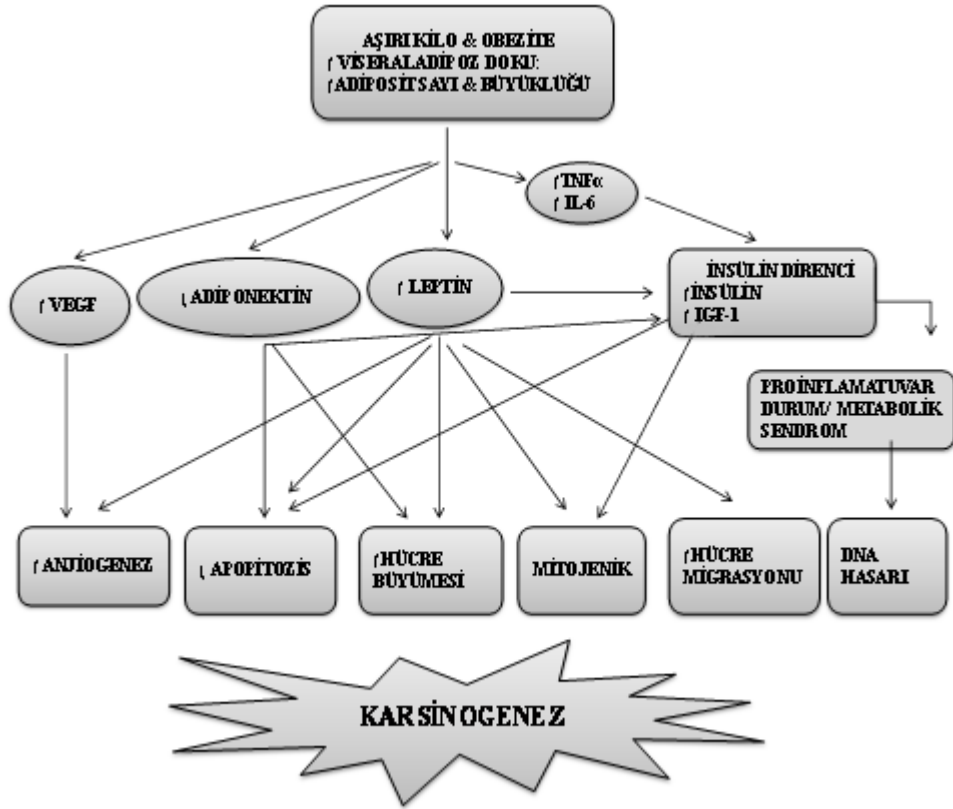
2.3.7. Leptin ve malignensi

Son iki dekatta obezite prevalansı belirgin olarak artmıştır. Bugün obezitenin ciddi, kronik bir hastalık olduğu kabul edilmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde obezite prevalansı giderek artmaktadır. Amerika’da yetişkinlerin %66’sı aşırı kilolu ve %31’i obez olarak tespit edilmiştir (160). Obezite ile ilişkili kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet ve osteoartrit gibi morbiditeler obez popülasyon için major birer risk oluşturmaktadır. Ayrıca, aşırı kilo ve obezite; özafagus ve gastrik kardiya adenokarsinomları, kolorektal ve hepatobiliyer kanserler gibi belli gastrointestinal malignensilerin insidansı ve mortalitesi için belirgin bir risk faktörüdür (161- 164). Güçlü epidemiyolojik bulgulara rağmen obezite ilişkili karsinogenezin moleküler mekanizmaları çok az anlaşılmıştır (165). Bir hipoteze göre, ‘adipokinler’ (leptin, adiponektin, VEGF, TNF- α , ve IL-6) , obezite ilişkili karsinogenez mekanizmasında önemli birer rol oynamaktadırlar.

Leptin, son yıllarda oldukça popüler olup bir çok araştırmanın da odağı olmaktadır ve obezite-kanser ilişkisinde anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir (166- 168). *Son araştırmalar, leptinin tümör hücre büyümesinin stimülasyonu, migrasyon, invazyon ve anjiyogenez gibi hepsi tümör progresyonunda rol oynayan birçok fonksiyonunun da olduğunu göstermiştir (şekil 1) (169).*

Yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmekle birlikte, dolaşımdaki leptin düzeyleri adipoz doku kütlesiyle direkt korele olup, obezite durumunda artış göstermektedir. Bu artmış konsantrasyonlar hem artmış yağ kütlesi hem de daha genişlemiş adipositlerin sonucudur (67).

Birçok klinik çalışma serum leptin düzeyleri ile prostat kanseri (170), kolorektal kanser (171- 179), meme kanseri (180) ve bir çok başka kanser türü arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Bu çalışmaların bir kısmında serum leptin düzeyleri ve kanser riski arasında bir ilişki olduğu gösterilirken (170- 180), bir kısmında herhangi bir ilişkiye rastlanılmamıştır (181, 182).



Şekil 13: Obezite ilişkili faktörlerin özeti (169).

Bazı çalışmalarda kolorektal kanser hastalarında azalmış serum leptin düzeyleri gösterilirken (172- 176), diğerlerinde artmış serum leptin düzeyleri bildirilmiştir (177- 179).

Zhao ve arkadaşları çalışmalarında intestinal metaplaziden, intestinal tip gastrik adenokarsinom transformasyonunda leptin ve ob-R'nin iki yönlü ekspresyonunun tümör spesifik fenomen olabileceğini belirtmişlerdir (183).

2.4.SİTOKİNLER

2.4.1.Genel özellikleri

Sitokinler vücutta değişik hücreler tarafından sentezlenen, multi fonksiyonel polipeptidlerdir. Hastalıkların fizyopatolojisinde etkili ve terapötik potansiyele sahip olan bir protein grubudur. İmmün sistem hücreleri arasındaki ilişkileri kontrol ederek, inflamatuvar cevabı destekleyerek ve hematopoez olayını düzenleyerek birçok fizyolojik cevapta önemli rol oynarlar.

Sitokinlerin aktiviteleri ilk kez 1926'da Zinsser ve Tamiya tarafından tanımlanmış ve bunların lökositlerden salgılanan çözünür ürünler oldukları, damar duvarı fonksiyonlarını etkiledikleri bildirilmiştir (184).

Sitokinler polipeptid veya glikoprotein yapısında molekül ağırlığı 6.000- 80.000 Dalton arasında olan moleküllerdir (185). Bugüne kadar yüzden fazla sitokin tanımlanmıştır. Genellikle preform moleküller olarak depo edilemezler. Çok küçük konsantrasyonlarda bile özgül reseptörleri ile hedef hücreye bağlanarak etkilerini gösterebilirler.

Çok değişik özellikler göstermelerine rağmen her bir sitokin, özgül uyarana karşı cevap olarak özel hücre tipleri tarafından sentezlenir. Çoğunlukla mononükleer fagositik hücreler (MFH)'den ve T lenfositler de olmak üzere çok değişik hücre tipleri tarafından üretilen sitokinler kendi aralarında üretildikleri hücrelere göre isim alır. Nitekim MFH tarafından üretilen sitokinler 'monokin', T lenfositler tarafından üretilen sitokinler 'lenfokin' olarak adlandırılır.

Sitokin üretimi sınırlı ve bölgeseldir, depolanmaz. Bu nedenle ihtiyaç halinde yeni bir gen transkripsiyonu gerekmektedir. Transkripsiyon periyodu kısadır. Sonuç olarak hızlı sentez hızlı salınımıyla beraber olur. Sitokinler birbirlerinin sentezini ve/veya salınımını etkilemektedir.

Hedef hücrelerin büyüme, farklılaşma ve fonksiyonları üzerine etki gösterirler. Sitokin etkisi; o sitokini sentezleyen hücre üzerine ise 'otokrin', yakında başka bir hücre üzerine ise 'parakrin', dolaşım sistemi aracılığıyla ulaşılmış bir hücre üzerine ise 'endokrin' etki olarak sınıflandırılır.

Farklı sitokinler, aynı hedef hücre üzerinde değişik etkilere sahip olabilir. Tek bir sitokin birden çok hücre tipi üzerine etkili olabilir (pleiotropizm). Aynı hücre üzerine farklı sitokinler ortak etki gösterebilirler, Sitokinlerin, benzer diğer polipeptid hormonlarda olduğu gibi, aktivasyonu hedef hücre yüzeyinde bulunan özgül reseptörlere bağlanmasına bağlıdır. Özgül reseptörün ekspresyonu ise özgül sinyaller aracılığıyla düzenlenir (186).

Th1 (pro-enflamatuvar) ve Th2 (anti-enflamatuvar) hücreler tarafından üretilen sitokinler pek çok infeksiyon, otoimmün ve malign hastalıkların patolojisine etki etmektedir, Sitokin profilleri arasındaki bireysel farklılıkların bir kısmı, sitokin genlerinin düzenleyici bölgelerindeki allellik polimorfizmlere bağlı olarak ortaya çıkar (187).

2.4.2.Sitokinlerin sınıflandırılması

Sitokinler fonksiyonlarına göre 3 gruba ayrılırlar:

1. *Doğal=primer (innate) immüniteye aracılık eden ve düzenleyenler;*

- a)Tip 1 İnterferonlar (IFN)
- b)Tümör nekroz faktör
- c)İnterlökin 1
- d)İnterlökin 12
- e)Kemokinler

2. *Kazanılmış= sekonder (adaptive) immüniteye aracılık eden ve düzenleyenler;*

- a)İnterlökin-2, 4, 5, 13, 16 ve 17
- b)İnterferon- γ
- c)TGF- β
- d)Lenfotoksin

3. *Hematopoezi regüle edenler:*

- a)Stem cell factor (c-Kit ligand)
- b)İnterlökin -3
- c)Kolonİ-stimüle edici sitokinler
- d)Granülosit-monosit CSF (GM-CSF)
- e)Monosit CSF (M -CSF)
- f)Granülosit CSF (G-CSF) (188, 189).

2.4.3.Sitokinler ve kanser ilişkili enflamasyon

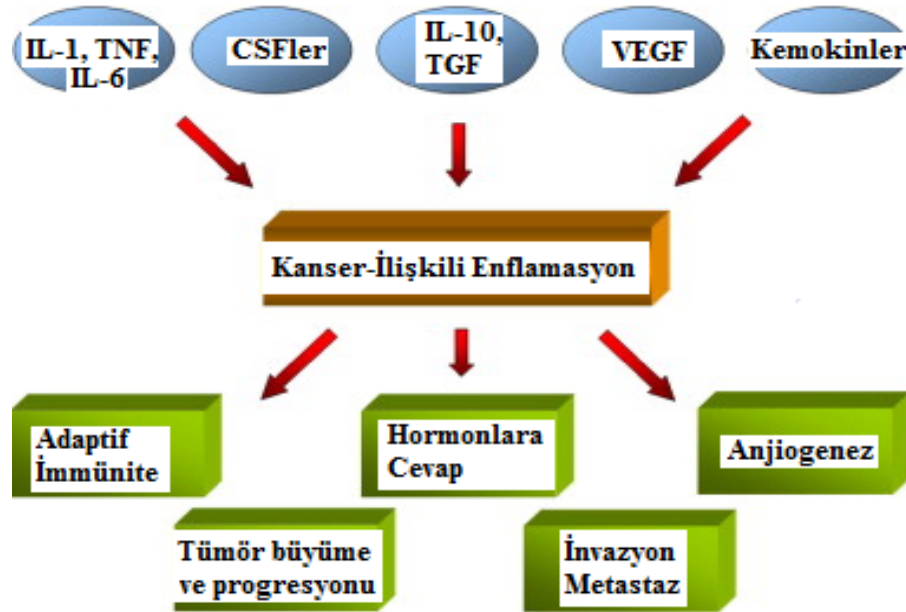
Sellüler patolojinin bulucusu olan Rudolf Virchow, kanseröz lezyonlarda lökositlerin varlığına dayanarak, enflamasyon ve kanser gelişimi arasındaki ilişkiyi 1863 yılında göstermiştir (190).

Tümör ilişkili enflamasyon; tümör mikro çevresinde makrofajlar ve granülositler gibi enflamatuvar hücrelerin varlığını ve aktivasyonunu, tümör ve stromal hücrelerce enflamatuvar mediatörlerin formasyonunu, tümör yeniden biçimlenmesini ve anjiogenezi gerektirir (191, 192). Mikrobiyal patojenlerin birikimi ve doku nekrozu; pro-anjiogenik faktörler (IL-8, VEGF), büyüme faktörleri (IL-6, GM-CSF), anti-apoptotik faktörler (Bcl-XL, c-FLIP), invazyonu destekleyen faktörler (MMP-2,MMP-7,MMP-9,uPA), enflamatuvar enzimler (PGHS-2, LOX), prostaglandinler, iNOS, kemokinler (CCL2, CCL20, IL-8) ve pro-enflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-

6, IL-23, TNF, TGF- β , EGF) ekspresyonu için gerekli olan ve malign fenotipi destekleyen transkripsiyon faktörlerini aktive eder. Yukarda bahsedilen bütün moleküller, nükleer faktör- kappa B (NF- κ B) denen transkripsiyon faktörü tarafından regüle edilir. NF- κ B, doğal immünite ve enflamasyonda anahtar düzenleyicidir; kritik tümör promotörü olarak ortaya çıkar (193). Temel olarak aktif NF- κ B'nin varlığı kötü klinik gidiş ile ilişkili bulunmuştur (194).

Tümör gelişiminin başlangıç fazında tümör infiltrate immün hücrelerden salınan sitokinler, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (NOS) gibi enflamatuvar mediatörler premalign lezyonlarda epigenetik değişimleri indüklerler ve tümör süpresör genleri sustururlar (195).

Birçok epidemiyolojik çalışma, çeşitli bölgelerde (meme, prostat bezi, endometrium, kolorektum ve mide), artmış kanser riski ve obezite arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, adipositokinlerin karsinogenezin ve tümör progresyonunun indüklenmesine katkı sağladığını düşündürmektedir (196, 197).



Şekil 14: Sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri, tümör hücreleri arasındaki karşılıklı etkileşimde yol gösterici rol oynar (198).

2.4.4.Primer enflamatuvar sitokinler:

Tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve interlökin-1 (IL 1)

2.4.4.1 Tümör nekroz faktör- α (TNF- α):

İlk defa, yağ α -makrofajlarından salgılandığı saptanan, immün fonksiyonları modüle eden TNF- α , yağ hücresinden de salgılanan bir sitokindir (96, 199). Etkilerini Tip 1 ve Tip 2 TNF- α reseptörleri aracılığıyla gösteren 26 kDa ağırlığında bir transmembran proteindir.

Dolaşımdaki TNF- α 'nın en büyük kaynağı deri altı yağ dokusudur (200). Obezlerde kilo kaybı ile miktarı azalır (201). Adiponektin ve insülin üretimini azaltırken, leptin, IL-6 ve PAI-1 üretimini artırır (202- 204). TNF- α 'nın yağ hücre kültürlerinde insülinin etkisini bloke ettiği görülür (199, 205, 206).

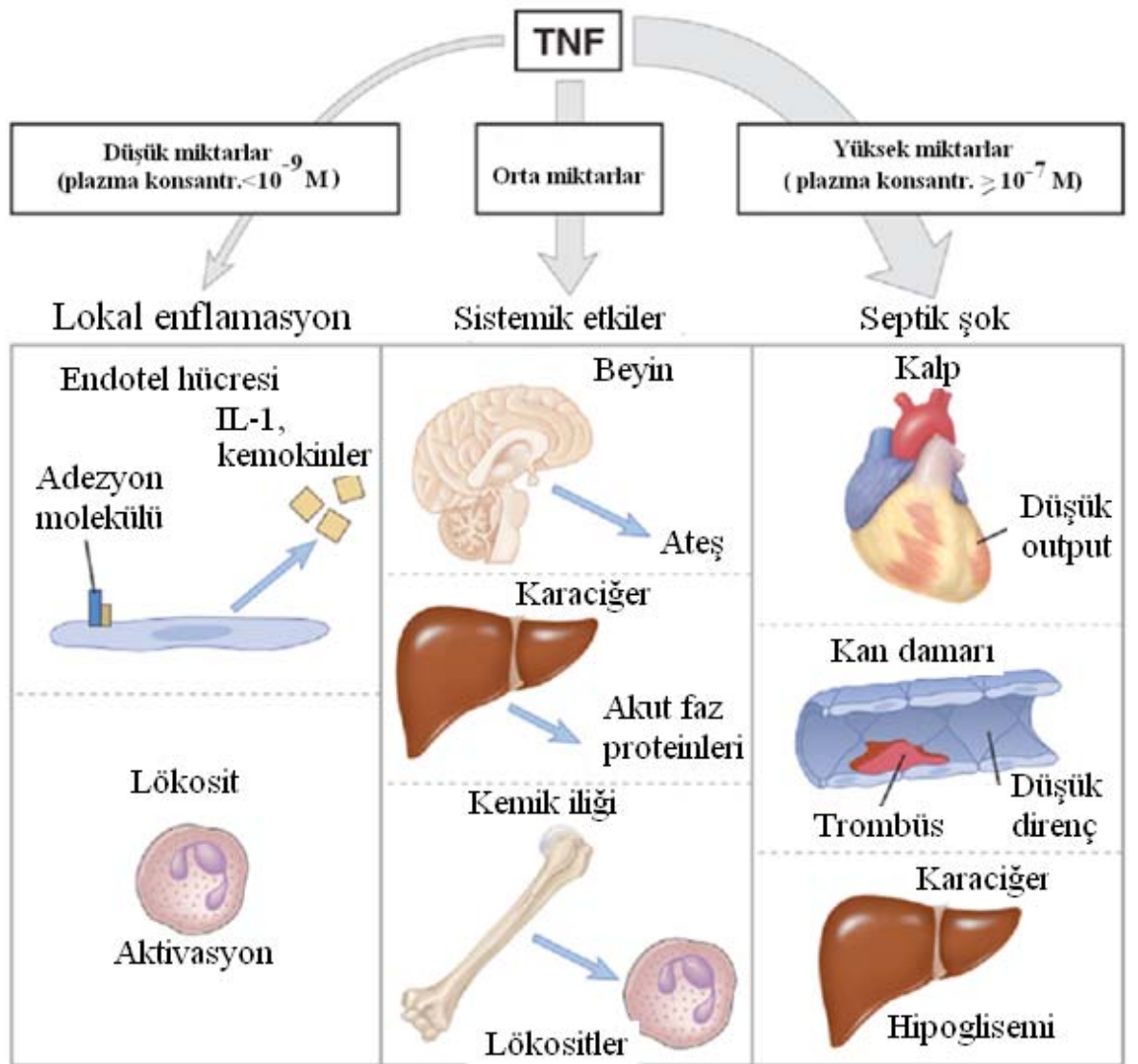
TNF- α 'nın iki reseptörü vardır: p60 insülin reseptör sinyali ve glukoz transportu ile ilgilidir ve p80 insülin direnci patogeneğinde ve yağ hücre membranında da bulunan reseptörlerdir. p60 aktivasyonu pre-adipositlerin farklılaşmasını inhibe ederken, p80 eksite eder (207). TNF- α yağ hücre sayısı ve volümünü düzenler, lipolizi stimüle eder, leptin üretimini artırır, tümör hücresinde TNF- α apoptotik etkili olup ve insülin reseptör sayısını azaltarak insülin direnci oluşumuna sebep olur, insülin reseptörünün tirozin kinaz aktivitesini bozar, böylece hücrelerin glukoz alımını azaltır (208, 209). Obezlerde ve insülin direnci gelişenlerde plazma seviyesi düşüktür ve iskelet kasında insülinin etkisini azalttığı bilinmektedir (210, 211).

TNF- α 'nın inflamasyon, septik şok, romatoid artrit, konakçı paraziter hastalıklar, obezite ve insülin rezistansı ile birlikte artışa geçtiği görülmüştür. Endotel hücrelerinde anjiogenezi ve oksidatif stresi artırır, hematopoezi düzenler, kök hücrelerinin farklılaşmasını ve osteoblast oluşumunu artırır, CD4+ yardımcı T hücrelerinde (Th) proliferasyonu artırır (şekil 15) (188).

2.4.4.2.Tümör nekroz faktör- α ve kanser:

Çoğunlukla aktif makrofajlar olmak üzere diğer hücre tipleri tarafından da üretilen TNF, tümörler üzerindeki etkisini farklı biyolojik mekanizmalarla gösterir. Tümör üzerindeki başlıca rolü, tümör endotelinde kanamalı nekroza yol açmaktır. Bunu tümörü besleyen kan damarlarında tromboza neden olarak gerçekleştirir.

TNF; makrofajlardaki diğer sitokinlerin (IL-1, IL-6, IL-8), serbest oksijen radikalleri ve nitrik oksit (NO) gibi sitotoksik faktörlerin oluşumunu ve salınımını uyararak da tümör hücrelerine etki etmektedir. Farelerle yapılan çalışmalar bu etkinin tümörlerde gerilemeye yol açtığını göstermiştir. Bunun yanında TNF, dendritik hücreleri uyararak onların makrofaj haline gelmelerini ve T hücrelerine antijen sunmalarını sağlayarak hücrel immün yanıtın oluşmasına da katkıda bulunur. TNF'nin tümörler üzerindeki bir diğer etkisi NK hücreleri ile olan ilişkisidir. NK hücreleri, herhangi bir makrofaja gerek duymadan salgıladıkları sitotoksik maddelerle tümör hücrelerine direkt olarak etki edip onları tahrip ederler.



Şekil 15: TNF-α'nın etkileri (188).

NK hücreleri tarafından gerçekleştirilen anti-tümör sitolitik aktivitesi ve sitotoksitesi ile ilgili proteinlerin (örneğin IFN) üretimi TNF tarafından artırılmaktadır. Böylece TNF anti-tümör etkisi gösterir. Literatürde yapılan *in vitro* çalışmalar da TNF'nin potansiyel anti-tümör etkisini desteklemektedir. TNF, fizyolojik olarak tümör regülasyonunda, hücre farklılaşmasında, bakteriyel, viral, fungal ve parazitik enfeksiyonlardan korunmada ana rolü oynamaktadır. Ancak TNF'nin gereğinden fazla salgılanması insanlarda çeşitli hastalıklara neden olur (otoimmün hastalıklar, alerji, septik şok ve insülin direnci gibi) (212, 213).

TNF'nin çok tartışılmış ve halen tartışılmakta olan anti-tümör aktivitesine rağmen, tümör destekleyici etkisinin de görülmesi büyük bir ikilem oluşturmaktadır. *In vitro* çalışmalarda düşük doz TNF'nin, bazı kanser hücre kültürlerinde tümör hücrelerinin proliferasyonuna, yayılmasına ve metastazına neden olarak tümör gelişimini tetiklediği gösterilmiştir. Bu etkinin moleküler detayları henüz bilinmemektedir. Ancak TNF'nin DNA hasarına yol açtığı, kanser hücreleri veya tümörü fagosit eden makrofajlarda NO ve serbest oksijen radikallerinin üretimini fazlaca artırarak DNA onarım mekanizmalarını inhibe ettiği hipotezi ileri sürülmüştür. Ayrıca hücrelerde NFκB aktivasyonu ile apoptozun engellendiği durumlarda, hücrelerin hayatta kalmasını sağlayarak tümör gelişimine katkı sağladığı da düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar yeni bir soruyu da beraberinde getirmektedir: *TNF'nin aslında bilindiği gibi tümör nekroz faktörü mü yoksa tümör destekleyici faktör olarak mı görev yapmakta olduğu halen büyük bir soru işaretidir.* Artan bir hızla devam eden araştırmalar bu ikilemi çözecektir (214- 216).

2.4.4.3 İnterlökin-1 :

İnterlökin-1 (IL-1), multifonksiyonel potent bir pro-enflamatuvar sitokindir. Endojen pirojen olarak görev alır. Hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve birçok doğal ve spesifik immünkompetan hücre fonksiyonu üzerinde ateş; artmış hepatik akut faz yanıtı; artmış metastaz; anjiogenez; artmış antikor ve lenfokin üretimi; kıkırdak yıkımı; fibroblast, düz kas hücresi ve mezengial hücrelerde proliferasyon gibi çeşitli etkilere neden olur (217). IL-1 birçok inflamatuvar hastalığa, immün ve inflamatuvar cevapları başlatarak ve güçlendirerek, aracılık eder (213).

IL-1 ilk defa ateş indükleyici protein olarak tanımlanmış ve 'insan lökositik pirojeni' olarak adlandırılmıştır.

Orijinal IL-1 ailesi, IL-1 α ve IL-1 β 'dan oluşmakta ise de, bugün oldukça genişlemiş olup 11 üyesi vardır. Aile ayrıca; ko-reseptörler, tuzak reseptörler, bağlanma proteinleri ve inhibitör reseptörler olmak üzere 9 farklı geni içermektedir (218).

İnsanda 2. kromozomun uzun kolunda bulunan IL-1 α ve IL-1 β minimal sekans homolojisine sahip olsalar da benzer biyolojik özellikler gösterirler. Bununla birlikte lokalizasyonları, maturasyonları ve sekresyonları yönünden temel farkları bulunmaktadır. IL-1 α biyolojik aktif form iken; IL-1 β , pro-IL-1 β şeklindedir ve IL-1 converting enzim (caspase-1) ile işlem görünceye kadar biyolojik aktiviteye sahip değildir.

IL-1'in tip I (IL-1RI) ve tip II (IL-1RII) olmak üzere iki reseptörü vardır. Ayrıca, sinyalde kritik rol oynayan, IL-1 β 'nın IL-1RI'e bağlanma affinitesini arttıran ve bir aksesuar protein olan IL-1 receptor accessory protein (IL-1RAcP) de tanımlanmıştır (219- 221).

IL-1RI, sinyal reseptörüdür ve büyük ölçüde eksprese edilendir. IL-1 α ve IL-1 β , IL-1RI'e bağlanarak benzer etkiler gösterirler. IL-1RII, myeloid hücrelerde eksprese edilir, 20 amino asitlik kısa bir sitoplazmik kısmı vardır (222).

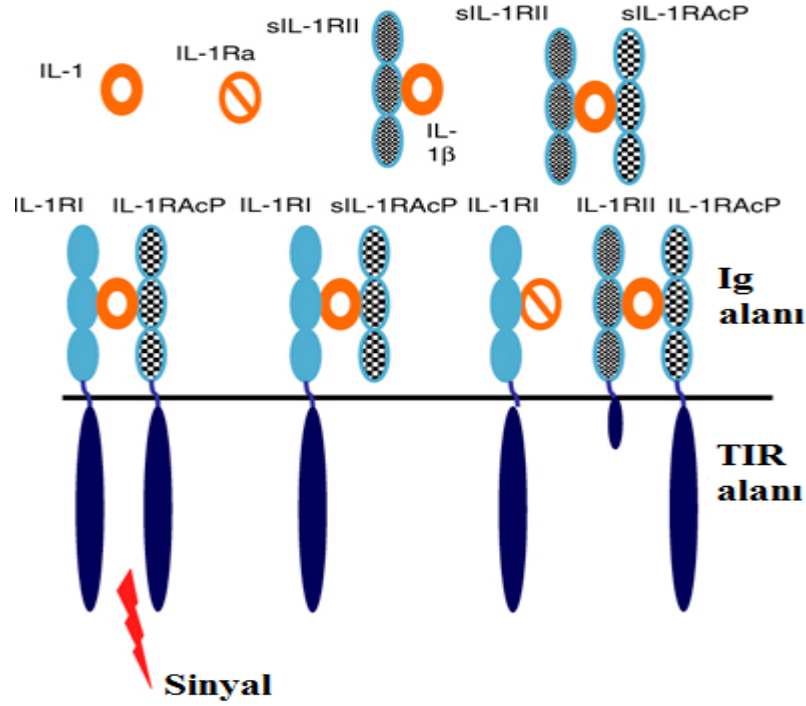
IL-1 sinyal aktivitesi IL-1RI üzerinden IL-1RAcP uyumu ile olmakta iken IL-1RII'nin sinyal özelliği yoktur, IL-1'in tuzak hedefi olarak rol alır ve IL-1'in IL-1RI'e bağlanmasını AcP ile yarışarak önler.

Hücre kültürlerinde ve vücut sıvılarında IL-1 reseptörlerinin solubl formları tanımlanmıştır (223, 224). Bilhassa IL-1RII'nin solubl formları; plazmada veya romatoid artrit, sepsis sendromu, saçlı hücreli lösemi ve akut meningokokal enfeksiyonlarda hastaların sinovyal sıvılarında gözlenmiştir. Yüzey IL-1RII ekspresyonu ya da solubl IL-1RII'nin dolaşımdaki seviyeleri, bunlar gibi birçok hastalıkta enflamasyonun derecesini etkiler görünmektedir (223, 225).

IL-4, IL-13 ve glukokortikoid hormonlar IL-1RII'nin myelomonositik hücrelerden salınımını ve gen ekspresyonunu artırırken; kemoatraktanlar, reaktif oksijen molekülleri (ROI) ve TNF- α , hızlı proteolitik dökülmeyi aktive ederler (227- 229).

2.4.4.4. İnterlökin-1 ve kanser:

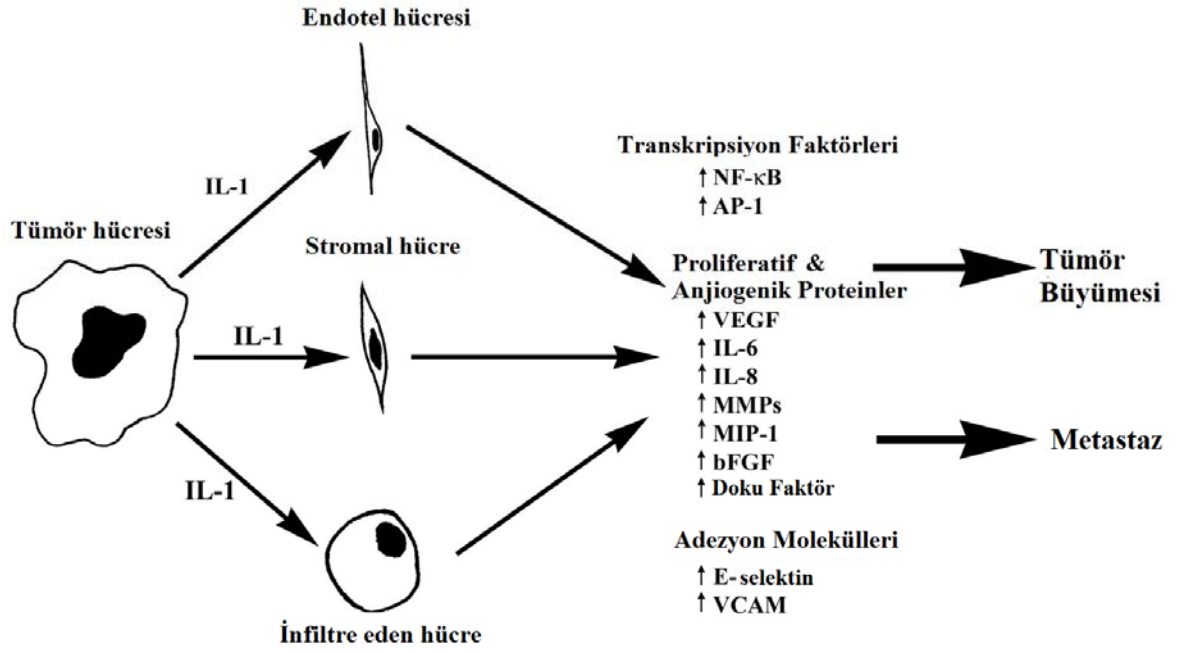
IL-1, deneysel modellerde anjiogenezi, tümör büyümesini ve metastazı destekleyen, bazı kanserlerde agresiv tümör biyolojisi ile ilişkisi bulunan pluripotent bir sitokindir (230) (şekil 17).



Şekil 16: IL-1'in ligand ve reseptörleri (226).
Toll/interlökin-1 reseptör (TIR).

Tümör, stromal ve endotel hücreler ve konağı infiltre eden immün hücrelerce üretilir (231). Lokal IL-1 üretiminin, konakta tümörün büyümesini ve metastaz kapasitesini direkt proliferatif etkilerle ve anjiogenik yollarla etkilediği deneysel modellerle gösterilmiştir (232, 233). IL-1 *in vitro* endotel hücresinde anjiogenik fenotipi ve *in vivo* anjiogenezi indükler (234- 236). Yapılan çalışmalarda pankreas kanserinde IL-1'in tümör progresyonu esnasında anjiogenezi desteklediği belirtilmektedir (237). Tümör mikroçevresinde tipik olarak bulunan, fibroblastları ve immün hücreleri de içeren diğer hücre tiplerinin proteinleri, IL-1'in anjiogenik aktivitelerini, indirekt olarak yönlendiriyor gibi görünmektedir (238- 242). IL-1'in subsellüler lokalizasyonuna bağlı olarak farklı IL-1 izoformları, farklı fonksiyonlara aracılık eder.

Malign hücrelerden eksprese edilen membrana bağlı IL-1 α , antitümör immün cevapları indüklerken, IL-1 α 'nın intrasellüler olarak bulunan prekürsörleri gen ekspresyonu, diferansiyasyon ve hücre büyümesi gibi homeostatik fonksiyonları kontrol eder. Tersine, salgılanan IL-1 β 'nin düşük konsantrasyonları enflamatuvar cevapları ve immün mekanizmaları down regüle ederken, yüksek konsantrasyonları enflamasyon ilişkili doku hasarını ve tümör invazivliğini destekler (243).



Şekil 17: IL-1'in in vivo tümör büyüme ve metastazına etkisi (231).

Örneğin, IL-1 β , midede H.pylori varlığında upregüle olmaktadır ve bu enfeksiyona enflamatuvar cevabın başlamasında ve güçlenmesinde önemlidir, ayrıca mide asit salgısının da güçlü bir inhibitörüdür (244, 245).

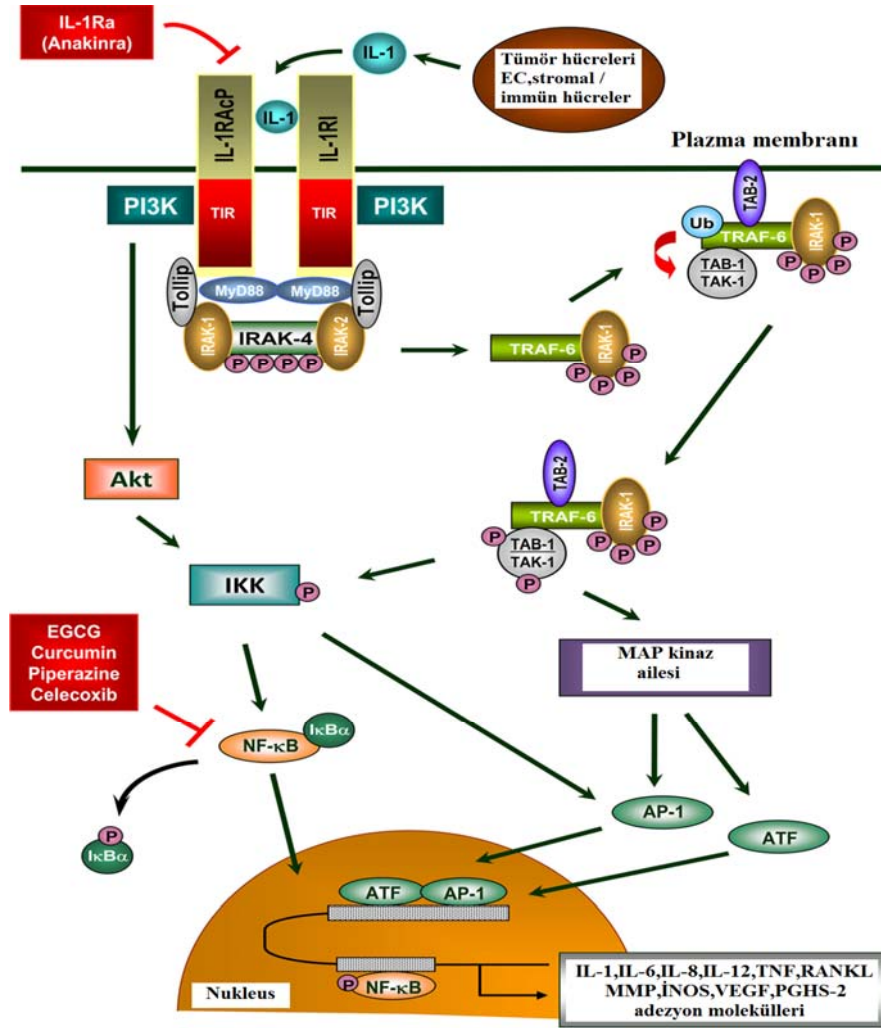
Bazı enfeksiyonlara konak cevabı için pro-enflamatuvar genotipler avantajlı olsa da, mide H. pylori enfeksiyonuyla ilişkili güçlü IL-1 β üretimi, mukozal hasarı alevlendirmekte ve sonunda, neoplazi riskini arttırmaktadır. IL-1 β gen (IL1B) promotör polimorfizimlerinin (IL1B-511 ve -31) artmış mide kanseri riski ile ilişkili olduğunu belirten ilk çalışmayı 2000 yılında, El-Omar ve ark. gerçekleştirmiştir (247).

2.4.5.İnterlökin-6 (IL-6):

IL-6, 184 amino asitten oluşan, yaklaşık 26 kD moleküler ağırlığında, glikoprotein yapısında bir sitokindir. İnsanda IL-6 geni 7p15-p21 kromozomunda lokalizedir.

Yağ hücresinden salgılanan ve insüline hassasiyeti etkileyen sitokinlerdendir. IL-6, birçok immün hücre (fibroblast, endotel hücre, lökositler, miyosit ve endokrin hücreler) tarafından üretildiği gibi yağ hücresinden de diğer hücrelere göre daha fazla

miktarda üretilir (36). IL-6 etkisini, IL-6 reseptörü aracılığı ile yapar. IL-6 reseptörü klas-1 sitokin reseptör sınıfındandır.



Şekil 18: Tümör mikroçevresinde IL-1 sinyali (246).

IL-1R ilişkili kinaz (IRAK), tümör nekroz faktör (TNF) reseptör- ilişkili faktör 6 (TRAF6), TNF- ilişkili apoptoz-indükleyici ligand (TRAIL).

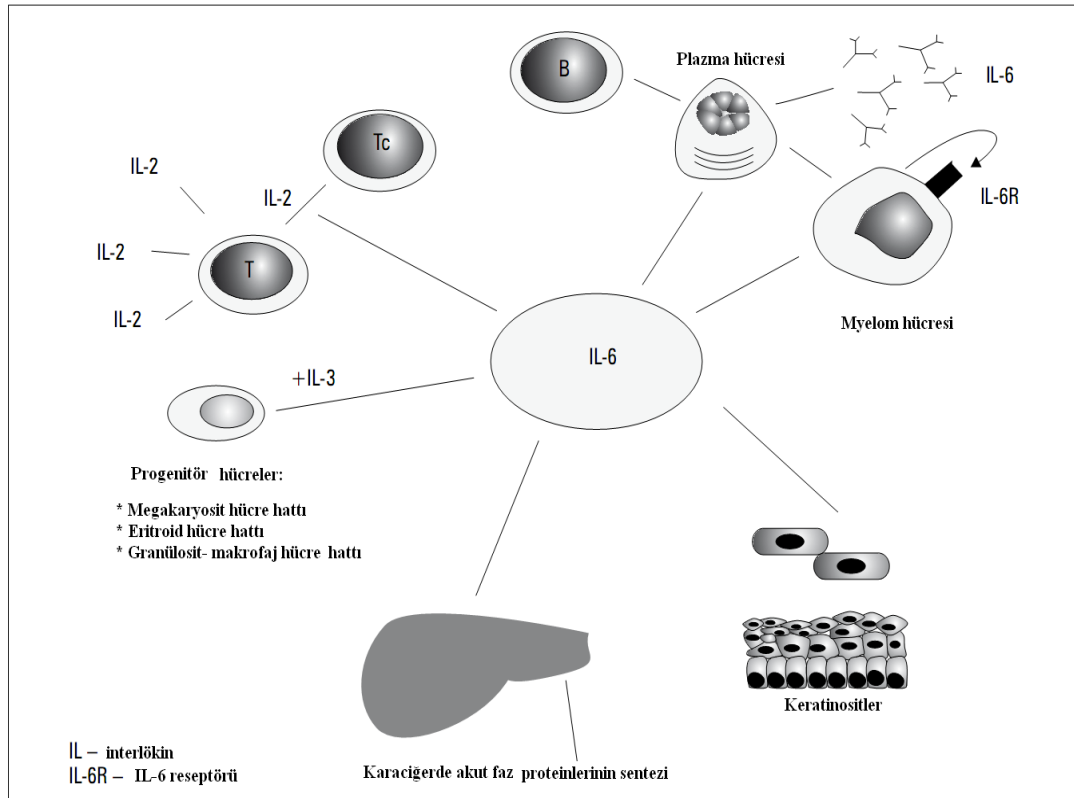
Yağ hücresinde fonksiyonlarını otokrin ve parakrin olarak düzenler. Visseral yağ hücrelerinde deri altı yağ hücrelerine göre üretimi 3 kat fazladır (96, 249).

IL-1 ve TNF- α 'nın etkisi ile salgılanır ve bu sitokinlerle sinerjistik etkilere sahiptir. IL-6'nın en iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerine olup, akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteininin hepatositler tarafından sentezine neden olur. IL-6'nın insülinin hepatik glikojen metabolizması üstündeki etkilerine ters etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (36, 248). Visseral yağ hücresinden

salgılanan IL-6 portal yolla karaciğere ulaşarak hepatik trigliserit oluşumunu ve sekresyonunu, prokoagulan madde sentezini artırır ve hipertrigliseridemiye neden olur. IL-6, yağ dokusunun lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesini, enerji depolanmasını azaltır, akut faz protein sentezini stimüle eder, hipotalamo-hipofizer aksın aktivitesini artırır ve termogenezde kortikotropin salgılayıcı hormon (CRH) sekresyonunu artırır (210). IL-6 kortizol salınımını CRH ve ACTH salınımını uyarak artırır. Kortizol ise feedback inhibitör gibi IL-6 üretimini baskılar. Obezitede IL-6 plazma seviyesi artar (207).

2.4.6.İnterlökin-6 ve kanser :

IL-6, konak defans mekanizmalarında, malignensilerin patogenezi ve gelişmesinde santral bir rol oynamaktadır (250). Anahtar bir *büyüme destekleyici ve anti-apoptotik* enflamatuvar sitokindir ve neoplazinin güçlenmesinde NFκB'nin aktivasyonunun efektör sinyallerinden biridir (198).



Şekil 19: IL-6'nın biyolojik aktivitesi (251).

Multipl myelomda, hem otokrin hem de kemik iliği stromal hücrelerince parakrin olarak IL-6 üretiminin gösterilmesi, IL-6'nın pro-tümöral rolünün açık bir örneğidir (252). Ayrıca, IL-6 yetersiz farelerin plazmositom gelişimine dirençli olduğu belirtilmiştir (253).

Çeşitli gastrointestinal kanserlerde IL-6'nın yüksek serum düzeyleri bildirilmiştir (254). IL-6'nın dahil olduğu IL-6 sitokin ailesi IL-11, siliyer nörotropik faktör, kardiyotropin-1, kardiyotropin benzeri sitokin, lösemi inhibitör faktör, onkostatın M ve IL-27'yi içerir ve bütün bunlar sinyal reseptör subünit gp130 için ligand olarak görev yapar. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, farelerde gp130 mutasyonunun (gp130 757 ^{F/F} fare), kronik gastrik enflamasyonu ve H.pylori enfeksiyonu olmaksızın gelişen mide tümörlerini güçlendirdiği kanıtlanmıştır (255).

Mukozal IL-6 düzeyleri, H.pylori ilişkili gastritte artmaktadır (256, 257) ve enfeksiyonun eradikasyonu ile dramatik bir düşüş göstermektedir (258). Mide mukozasındaki IL-6 mRNA düzeyleri de gastrik mukozal enflamasyon ile koreledir (257, 259).

Leu ve ark. (260) birçok özafageal karsinom dokusunun IL-6 mRNA eksprese ettiğini ve staurosporin tarafından indüklenen özafageal karsinom hücre hattını IL-6'nın apoptozisden koruduğunu göstermişlerdir. IL-6'nın diğer epitelyal tümörlerce de üretildiğini gösteren çalışma mevcuttur (261). Multipl myelom (262), renal hücreli karsinom (263), mesane karsinomu (264), baş ve boyun kanseri (265), over kanseri (266) ve kolanjiokarsinomali hastalarda (267) da artmış serum IL-6 düzeyleri saptanmıştır.

IL-6'nın kolon kanser hücrelerinin büyümesini doza bağımlı olarak desteklediği *in vitro* olarak gösterilmiştir (268). Ayrıca IL-6, anjiogenik potansiyeli ile sekonder tümör oluşumunu desteklediği gibi, kolon kanser hücrelerinin invazivlik özelliklerini de arttırmaktadır (269).

Serum IL-6 ve mide kanseri ilişkisini araştıran çalışmalardan birinde serum IL-6 düzeylerinin mide kanserinin hastalık statüsü ile korele olduğu ve IL-6'nın mide kanserli hastalarda tedavinin monitorizasyonunda yeni bir tümör markırı olarak kullanılabileceği söylenmiştir (270). Kim ve ark., yüksek IL-6 düzeylerinin mide kanserli hastalarda surveyde ve hastalığın rekürrensinde kötü bir prognostik faktör olduğunu belirtmişlerdir (271). Ikeguchi ve ark. yaptıkları çalışmada ise mide kanserli hastalarda serum IL-6 düzeylerini sağlıklı kontrollerden belirgin olarak daha yüksek bulmuşlar ve serum IL-6 düzeyleri ve tümör invazyon derinliği arasında da

anlamli pozitif korelasyon tariflemislerdir (272). Mide tümörünün ülseratif reaksiyonu mide duvarında hasara neden olduğu ve bu hasarın derecesinin serum IL-6 düzeyleri ile ilişkili görüldüğünü belirtmişlerdir (272).

Bu sonuçlar IL-6'nın tümör progreyonunu malignensi yönünde hızlandırdığını işaret etmektedir (273).

2.4.7.Tedavilerin hedefinde sitokinler

Kanser ilişkili enflamasyon geleceğin anti-tümör tedavilerinde cazip bir hedef durumundadır. Populasyona dayalı çalışmalarda, aspirin ve diğer nonsteroid anti-enflamatuvar ilaçların uzun süreli kullanımının premalign adenomların gelişimini geciktirdiği ve ayrıca çeşitli formdaki neoplazi insidansını azaltabildiği gösterilmiştir (274, 275).

Primer enflamatuvar sitokinler (IL-1 ve TNF), infiltre lökositler ve tümör hücreleri tarafından eksprese edilirler ve potansiyel antikanser tedavisinin santral hedefi durumundadırlar. Tümörlere karşı anti-sitokin stratejilerin kliniğine translasyonu, bazı enflamatuvar hastalıklarda TNF inhibitörlerinin kullanımını takip etmiştir. Bununla birlikte, TNF- α antagonistleri alan hastalarda Mycobacterium tuberculosis gibi fırsatçı enfeksiyonlara dikkat edilmelidir (198).

Romatoid artritli hastalarda TNF- α antagonistleri, kanserin biyolojik tedavisinde faydalı olabilecek bütün olayları; enflamatuvar sitokinleri, matrix degrading enzimleri (MMP), anjiogenik aktiviteyi ve enflamasyon bölgesinde lökosit kümelenmesini inhibe etmektedir (276). Bu sonuçlara dayanarak TNF- α antagonistleri tek başına veya diğer tedavilerle kombine olarak kanserli hastalarda uygulanmaktadır ve bazı sınırlı sonuçlar gözlenebilmektedir.

Tümör nekroz faktörün (TNF- α) tümörlerde yüksek düzeyde eksprese edildiği ve pro-anjiogenik olduğu düşünülür. Paradoksal olarak ise yüksek dozlarda güçlü bir anti-vasküler sitokindir ki klinik olarak tümör vaskülaritesinin tahribi için kullanılabilir. TNF- α , sellüler apoptozu başlatma kabiliyetindedir ve bu apoptotik yolların tümör hücrelerinde etkisizleştirilmesi mümkündür. Ancak, TNF- α 'nın güçlü ve toksik sistemik yan etkileri vardır ve günümüzde sadece sınırlı kullanımı mevcuttur. Tümörlere karşı TNF- α 'yı hedefleyen bir çok çalışma halen devam etmektedir (277). Bu çalışmalardan birinde Chen ve ark. insan mide kanseri vasküleritesini hedefleyen bir peptid olarak bilinen ve yeni geliştirilen bir insan mide kanseri vasküler markırı olan (GX1)'i, TNF- α 'dan daha az toksik ve antitümör

aktivitesinin daha potent olduğu bilinen varyantı olan rekombinant mutant TNF- α (rmhTNF- α) ile kaynatmışlar ve birlikte insan mide tümör ksenogreftlerini de içeren karışımı, füzyon proteinin tümör üzerinde sinerjistik terapötik etkisinin olup olmadığını görmek için, gün aşırı farenin dolaşımına enjekte etmişlerdir. TNF toksisitesi için majör indikatör olan farenin ağırlığı ve tümörün hacmini zamanla ölçmüşler, tümör büyümesinin belirgin olarak geciktiği, mide kanser hücrelerinin GX1 sayesinde direkt hedef alınıp, antikanser tedavide TNF- α 'nın anti-tümör etkisini güçlendirdiğini göstermişlerdir (278).

IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra), IL-1 reseptör aksesuar proteininin etkileşim parçasını eksiltir, böylece IL-1Ra'nın IL-1RI'e bağlanması IL-1 sinyalini inhibe eder. IL-1Ra eksik/kusurlu farelerde spontan olarak kronik enflamatuvar poliartropatinin geliştiği gösterilmiştir (270). Bir başka fare modelinde de, IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra), eşzamanlı uygulanan ekzojen IL-1 tarafından hızlandırılmış tümör büyümesini bloke etmiş ve hepatik metastazları inhibe etmiştir (279). Elaraj ve ark. yaptıkları çalışmada, IL-1 üretiminin tesbit edildiği tümörlerde, IL-1Ra'nın yalnız ya da kemoterapi rejimleri ile birlikte verilmesinin, çeşitli kanser histolojilerine sahip hastalarda klinik olarak faydalı olabileceğini öne sürmüşlerdir (230).

IL-6'nın pirojenik aktivitesi, onu progresif kanser hastalarında ateş varlığı, kilo kaybı ve kaşeksiden sorumlu tutmaktadır. Dimitriu ve ark., kanser vakalarında prematüre ölümlerin %20'sinden fazlasında kaşeksinin sorumlu olduğunu vurgulamışlardır (280). Bu bilgiler, IL-6'ya karşı monoklonal antikorlara dayalı tedavinin, bu hastalarda surveyi arttırabileceğini ve kaşeksili hastalarda tedavide yeni bir strateji olabileceğini göstermiştir. Multipl myelom tedavisinde, IL-6 ve IL-6R'ye karşı monoklonal antikor kullanılarak IL-6'nın hedef alınabileceğini belirten çalışmalar mevcuttur (281).

2.4.8. Solubl reseptörler nedir?

Solubl sitokin reseptörleri, sitokin sinyalinin agonist veya antagonistleri olarak enflamatuvar ve immün olayları regüle ederler. Aslında, sinyal reseptörlerini, nonsinyal tuzak reseptörlerini, reseptör ilişkili proteinleri ve solubl reseptör antagonistlerini içeren kompleks reseptör sistemlerinin içerisinde hareket ederler. Solubl sitokin reseptörleri; reseptör ektodomainlerinin proteolitik kırılması, mRNA transkriptlerinin alternatif splayıngi, solubl sitokin bağlayıcı proteinleri kodlayan

farklı genlerin transkripsiyonu, eksozom benzeri veziküllerin içeriğiyle birlikte full-length reseptörlerin salınması ve reseptörlerin kırılmasını da içeren birçok mekanizma ile genellenebilir. Dahası; solubl sitokin reseptörleri, memeli reseptörlerinin solubl homologlarını kodlar ve böylece esansiyel sitokinlerin sekestrasyonu yoluyla konağın doğal immün cevabından kurtulur. Solubl sitokin reseptörlerinin konak savunma mekanizmasının regülasyonundaki bu önemli rolü, yapılan çalışmalarda virüsler tarafından kanıtlanmıştır (282).

IL-1 ve IL-6 reseptör sistemleri, agonist ve antagonist etkilere aracılık eden solubl sitokin reseptörlerine birer örnektir. Her iki sistem de, reseptör ilişkili proteinler gibi birçok hücre ilişkili ve solubl reseptörlerle regüle edilen, komplekslerdir (282). sIL-1RII'nin, IL-1 sinyalindeki antagonistik etkisine ters olarak, solubl IL-6 reseptörleri (sIL-6R α), IL-6 sinyalini güçlendirir. sIL-6R α , iki farklı yolk ile üretilir:

- 1- membrana bağılı IL-6R'nin ekto parçasının çıkarıldığı proteolitik kırılma ile veya
- 2- IL-6R'nin transmembran parçasının eksik senteziyle sonuçlanan alternatif mRNA splicingi ile (283, 284).

Solubl IL-6R, membran IL-6R ile benzer afinite ile IL-6'ya bağlanır, bu şekilde IL-6'nın ömrü yarım kat arttırılır (285).

2.4.8.1. Solubl İnterlökin-1 tuzak reseptör (sIL-1RII) önemi ve mide kanserinde yeri

Tuzak reseptörler, primer pro-enflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin etkisini regüle eden genel bir strateji sunarlar. Tanımlanan ilk saf tuzak reseptör, sIL-1RII'dir. Tuzak reseptörler, terapötik müdahaleler için aday hedeflerdir. IL-1RII gibi tuzak reseptörlerin potansiyellerini ve terapötik ayarlama regülasyonlarını değerlendirmek önemli yaklaşımlardır (286).

Solubl reseptör ölçümü klinik olarak önemlidir. Sistemik enflamasyon proseslerinin değerlendirilmesinde, anti-enflamatuvar bir markır olarak sIL-1RII seviyesinde meydana gelen değişiklik çeşitli çalışmalarda incelenmiştir (287, 288).

Aşırı proenflamatuvar IL-1 sinyalini önlemek için multipl endojen regülatör mekanizmalar bulunmaktadır. sIL-1RII, primer olarak çeşitli stimulanlara cevabın proteolitik kırılması için üretilmiştir (289). Aşırı IL-1 biyoaktivitesini tercihen IL-1 β 'ya bağlanarak azaltır (290). Dahası, sIL-1RII'nin IL-1 α ve IL-1 β 'ya bağlanma ve IL-1 sinyalini inhibe etme kabiliyeti, solubl IL-1RAcP tarafından yaklaşık 100 kat

güçlendirilir (291). Ayrıca sIL-1RII, pro-IL-1 β prekürsörünün IL-1 converting enzim (caspase-1) tarafından matür forma dönüşüm prosesini de inhibe eder (292).

2.4.8.2. Solubl leptin reseptör (SLR) önemi ve mide kanserinde yeri

SLR, plazmada ana leptin bağlayıcı aktivitedir, leptinin *in vivo* biyolojik aktivitelerinin regülasyonunu anlamamıza yardımcı olmuştur. Yapılan birçok çalışma, leptin sinyallerinin çeşitli periferel dokularda, çeşitli fizyolojik fonksiyonları yönettiğini göstermiştir (293). Bu dokularda SLR de bulunmaktadır. Akut SLR indüksiyonu, bu bölgelerde leptin sinyalini geçici olarak inhibe etmektedir. Bu bölgelerde leptin aktivitesinin SLR tarafından nötralizasyonu açlık durumlarında koruyucu olabilmektedir. Ancak, leptine dirençli bir durumda, artmış SLR, leptin aktivitesini gerektiğinde köreltip, lokal leptin direncine ve obezitenin patogeneze potensiyel olarak katkıda bulunmaktadır (294).

İleri evre kolon kanserli hastaların dolaşımında SLR, kanser progresyonu ve agresivliğini gösterir şekilde, yüksek seviyede bulunmaktadır (295).

Leptin ve leptin reseptörü arasındaki etkileşimin gastrik karsinogenezi indükleyen önemli bir faktör olduğuna inanılmaktadır. İntestinal tip mide adenokarsinomu gelişiminde, leptin sisteminin otokrin döngüsünün varlığı, yakın zamanda Zhao ve ark. tarafından bildirilmiştir (183). Bu nedenle, leptin ve leptin reseptörü arasındaki etkileşimi anlamak mide kanseri yönetiminde faydalıdır. Reseptörün blokajı rasyonel bir terapötik strateji olabilir (296).

2.5.SODYUM DODESİL SÜLFAT-POLİAKRİLAMİD JEL ELEKTROFOREZİ (SDS- PAGE)

Jellerin hazırlanması:

SDS-diskontinyus tampon sistemi, 1970’de Laemmli tarafından orijinali tanımlanmış olup bir örnekteki polipeptid moleküler kütlelerin ve kompleksitenin tayinine olanak tanır.

Bir solüsyondaki protein karışımına bir elektrik akımı uygulanması elektrotlardan birine proteinlerin farklı oranlarda göçü ile sonuçlanır. Daha yüksek yük dansiteli proteinler daha düşük dansiteli olanlardan daha hızlı göç eder.

Akrilamid jeller, akrilamid monomerlerinin N-N-metilbisakrilamid çapraz bağlarıyla bağlı uzun zincirlere polimerizasyonu ile oluşur. Akrilamidin polimerizasyonu amonyum persülfat (APS) ve polimerizasyon prosesinde bir akseleratör olan

N,N,N,N-tetrametiltilediamin (TEMED) eklenmesiyle başlatılır. TEMED, persülfatları serbest radikallerin oluşumunu sağlayarak polimerizasyonu başlatır. Bu ayrıştırıcı tampon sistem, bütün proteinleri kendilerinin polipeptid subünitlerine ayrıştırır. En sık kullanılan disosiye edici ajan SDS denilen iyonik deterjandır. SDS fazlalığının ve disülfid bağlarının ayrılması için gerekli bir tiyol reaktifi olan 2-merkaptotanol varlığında protein karışımı 100 °C ye ısıtılır ve proteinler deneatüre edilir. Bu şartlar altında birçok polipeptid SDS'e sabit bir oranda bağlanır. SDS-polipeptid kompleksleri belirli yük dansitelerine sahiptir ve polipeptid büyüklüklerine göre poliakrilamid jellerin uygun porlarında göç eder.

Separating(Running) (Ayrıştırıcı=Koşturucu) ve Stacking (Kümeleyici) Jel Solüsyonları:

***0.5 M Tris-HCl; pH:6,8:** 60,5 gram Trizma-base, 600 ml distile suda çözülür. 1M HCl ile pH 6,8'e getirilir. Son hacim distile su ile 1 litreye tamamlanır. Solüsyon 4 °C'de saklanır.

***1.5M Tris-HCl; pH:8,8:** 181,5 gram Trizma-base, 600 ml distile suda çözülür. 1M HCl ile pH 8,8'e getirilir. Son hacim distile su ile 1 litreye tamamlanır. Solüsyon 4 °C'de saklanır.

***%10 (w/v) SDS:** 5 gram SDS hafif ısıtılarak distile suda çözülür. Son hacim distile su ile 50 mililitreye tamamlanır. Solüsyon oda sıcaklığında saklanır.

***Akrilamid/ Bis (%30):** Koyu renkli ticari şişede hazır olarak bulunur.

***%10 Amonyum persülfat (APS):** 0,2 gram APS 2 ml distile suda çözülür ve hemen kullanılır.

***TEMED:** Hazır olarak bulunur.

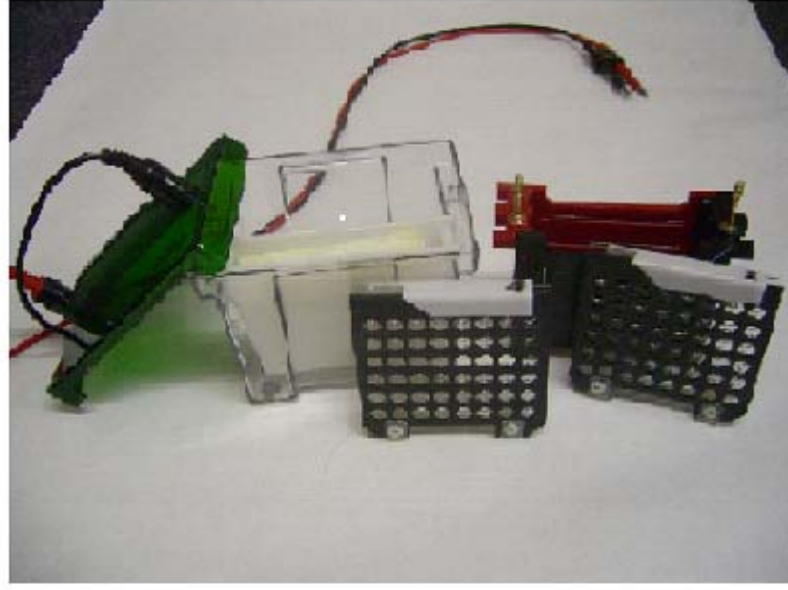
Bu diskontinyus tampon sistem, elektrod rezervuarları ile karşılaştırmalı olarak farklı tampon iyonlarını kullanır. Bu tampon sistemde running, ya da diğer bir ifadeyle seperating jelin üstünde polimerize olan stacking jelle örnekler yüklenir.

Geniş bir hacimde protein örneği jellere applike edilebilir ve running jeldeki elektroforezin başlangıcında, bu proteinler stacking jelden geçişlerinde, ayrımlarından önce dar zonlar halinde konsantre edilirler. Jel elektroforezi, diskontinyus tampon sistem kullanılarak oluşturulur ve running jel (%8 akrilamid)

yukarıda belirtilen önemli solüsyonların karışımı ile hazırlanır. Jel dökülmeden hemen önce karışıma TEMED ve amonyum persülfat eklenir.

Tablo 1: Ayırıştırıcı (Seperating) ve Kümeleyici (Stacking) Jel

	Separating Jel (%8)(mL)	Stacking Jel (%4)(mL)
Akrilamid/Bis (%30)	21,4	5,4
Tris-HCl; 1.5M; pH 8.8	20	-
Tris-HCl; 0.5M; pH 6.8	-	10
SDS (%10)	0,8	0,4
H₂O	37,8	24
APS (%10)	0,8	0,4
TEMED (µL)	27	20



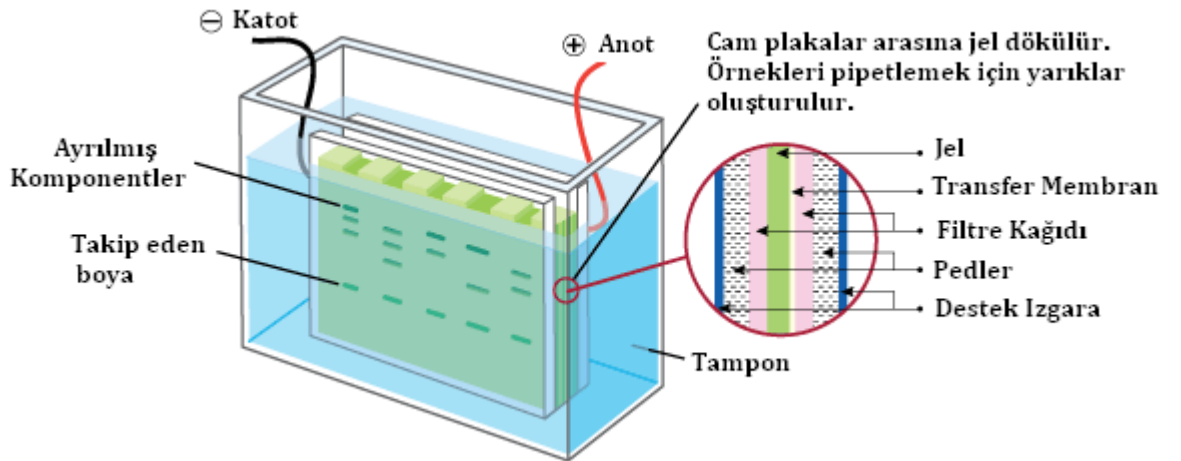
Şekil 20: Western blot aparatı.

Karışım, iki sızdırmaz cam tabaka arasına 15 mm aralıkla dökülür ve havayla teması kesmek için üzeri tridistile su veya t-amyl alkol ile kapatılır.

Jeli dökünce, örnek kuyucuklarını oluşturmak üzere bir tarak yerleştirilir. Jel polimerize olduğunda tarak çıkarılır ve kuyucuklar, varsa ortamdaki polimerize olmamış akrilamidi uzaklaştırmak için koşturucu tampon ile yıkanır.

Elektroforez:

Jele bir elektrik akımı uygulanır ve bu esnada sürekli soğutma yapılır. Bromofenol mavisi boya, jelin en sonuna ulaşınca kadar proteinlerin göçüne izin verilir. 10 cm² ve 1,5 mm kalınlığındaki jellerin elektroforezi 50 V altında bir gece bırakılarak yapılır.

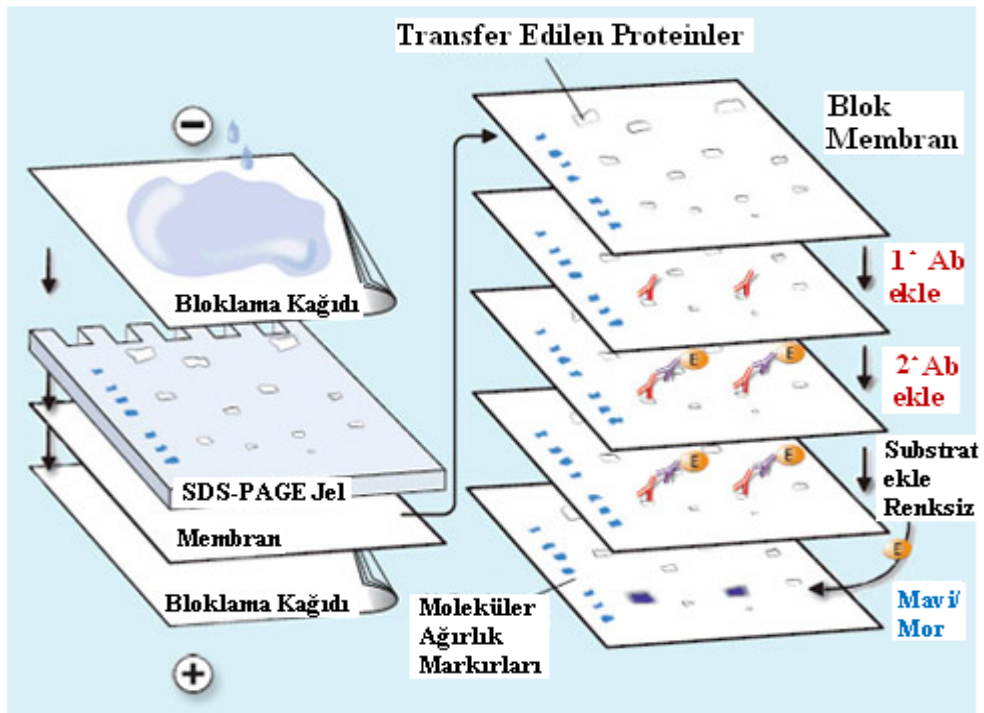


Şekil 21: Western blot kurulumunun gösterimi.

Western Blotting:

Protein transferi

Western blot, proteinlerin poliakrilamid jelden nitrosellüloz kağıtlara (Towbin ve ark, 1979) transferi için geliştirilmiş olup, aynı yolla DNA transferinin yapıldığı Southern blot tekniği için bir adaptasyondur. Bu transfer sistemi ile jelden, oldukça ince tabaka olan matrikse protein bantlarının etkili bir şekilde konsantre olarak transfer edilmiş olur. Bu çalışmada protein blotlama için kullanılan membran nitroselüloz yapıda Hybond C membranları (Amersham) dır.



Şekil 22: Western Blot protokolü

Jel, elektroforez aparatından çıkarılır ve SDS'i uzaklaştırmak için oda sıcaklığında 15 dk elektrobloeting tamponunda bekletilir. Bir Hybond C membran transfer tamponunda 10 dk bekletilir. Ardından blotlama aparatı birleştirilir. Bir yaprak Hybond-C membranı, jel üzerine, bütün hava kabarcıklarının uzaklaştırılmasına dikkat edilerek yerleştirilir, iki yaprak filtre kağıdı ve iki "scouring pad" arasında sandviç şeklinde sıkıştırılır. Plastik kaset, nitrosellüloz tarafı anoda yakın olacak şekilde, vertikal biçimde, iki elektroplate arasında asılır.

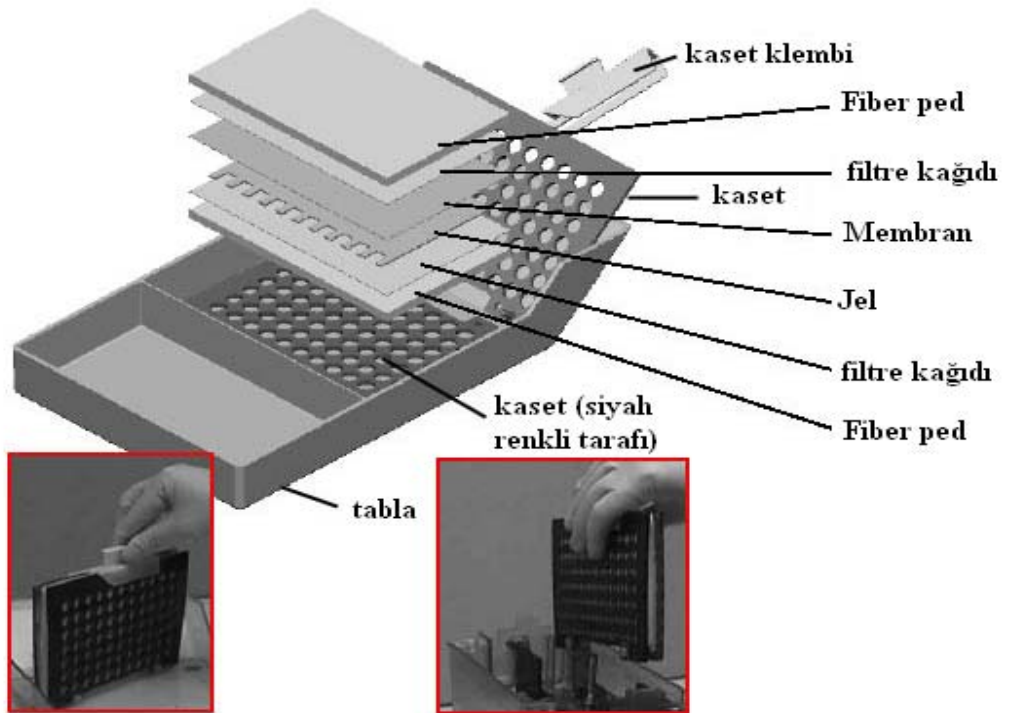
Elektroblotting Solüsyonları:

***Elektroblotting tampon (Transfer tamponu):** 4 gram SDS, 116 gram Glisin, 23,2gram Trizma-base bir miktar distile suda çözülür ve 800 ml metanol eklenir. Sonhacim distile su ile 4 litreye tamamlanır. Solüsyon 4°C’de saklanır.

***Yıkama tamponu (TBS):** 24,2 g / 2 L (100mM) Trizma-base ve 116,9 g/2L (1M) NaCl, 2 litre suda çözülür ve pH 7,5’e ayarlanır.

***Bloklaama solüsyonu:** 20 gram yağsız süt tozu TBS’de çözülür, %0.05 (v/v) Tween20 eklenir ve son hacim distile su ile 400 ml yapılır.

Proteinler, 25 V’luk elektrik akımı ile oda sıcaklığında 3 saatlik süreçte transfer olarak membrana aktarılır. Bu süre boyunca soğuk su, soğutucu sistem ile protein denatürasyonu önlemek için sistemden süreklilik arz edecek şekilde geçirilir.



Şekil 23: Blotlama aparatının sandviç şeklinde birleştirilmesinin gösterimi.

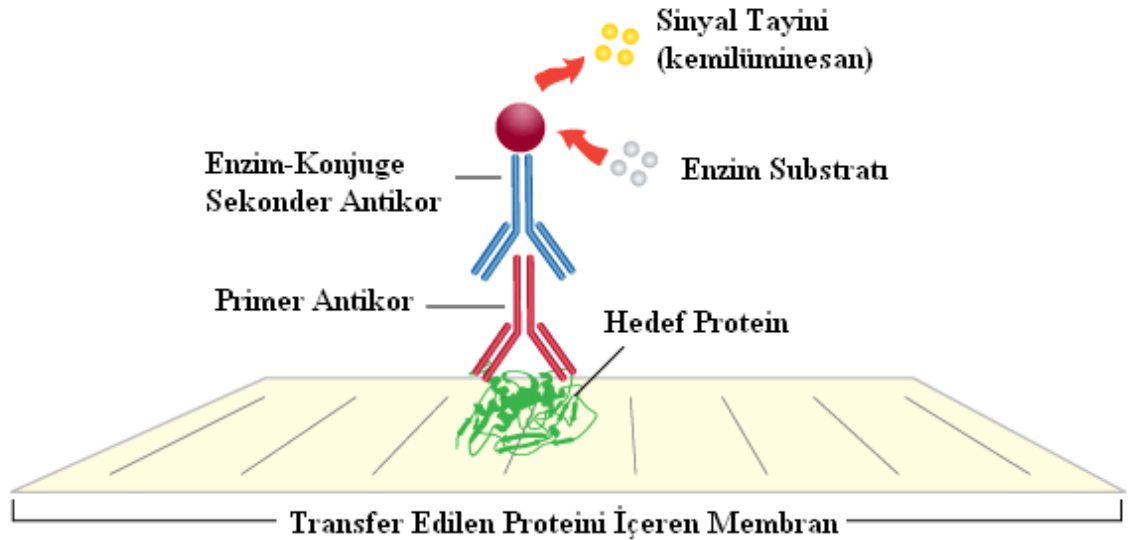
İmmünostaining

Blotlama sonrası Hybond-C membran alınır ve iki kere bloklaama solüsyonunda 30’ar dakika oda sıcaklığında yıkanır. Ardından membrana üç kere daha 20’şer dakikalık

TBS + %0,05 Tween içerisinde yıkama yapılır. Primer antikor, bloklama solüsyonu ve TBS + %0,05 Tween solüsyonunun 1:5 dilüsyonu ile, 1:1000 oranında dilüe edilir. Membran, bu antikor ile 4°C’de, bir rotator üzerinde bir gece boyunca inkübe edilir. İnkübasyonun ardından membran 3 kere yine 20’şer dakika TBS + %0,05 Tween solüsyonunda yıkanır. Sekonder antikor (anti-goat), horse radish peroxidase (HRP) ile bağlıdır ve 1:1000 oranında dilüe bloklama solüsyonu ile dilüe edilir ve 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilir. Son olarak membran 4 kere 30’ar dakika TBS + %0,05 Tween ile durulanır. Akabinde ECL reaktifi muamele edilen membran bir film üzerine monte edilerek karanlık odada protein bantlarının görüntülenmesi gerçekleştirilir.

Kemilüminesan sinyal

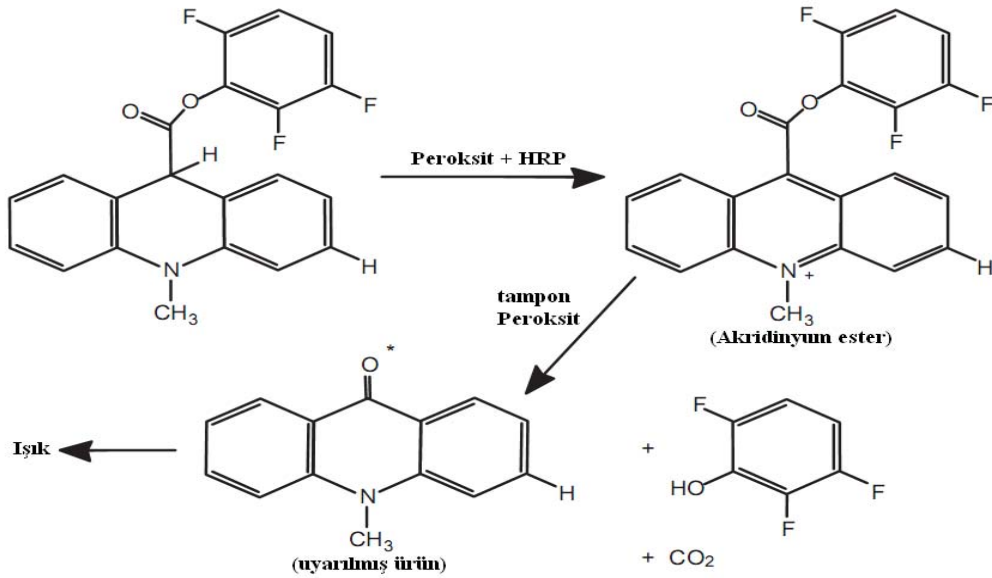
Western blotta, varolan kemilüminesan tayin reaktifleri, siklik diaçilhidrazid lüminolün oksidasyonu temeline dayanır. ECL Plus, akridinyum esterinin enzimatik jenerasyonuna dayanan, daha uzun süreli ve daha yoğun ışık emisyonu üreten yeni bir teknolojiyi kullanmaktadır.



Şekil 24: Western blot tayininin gösterimi.

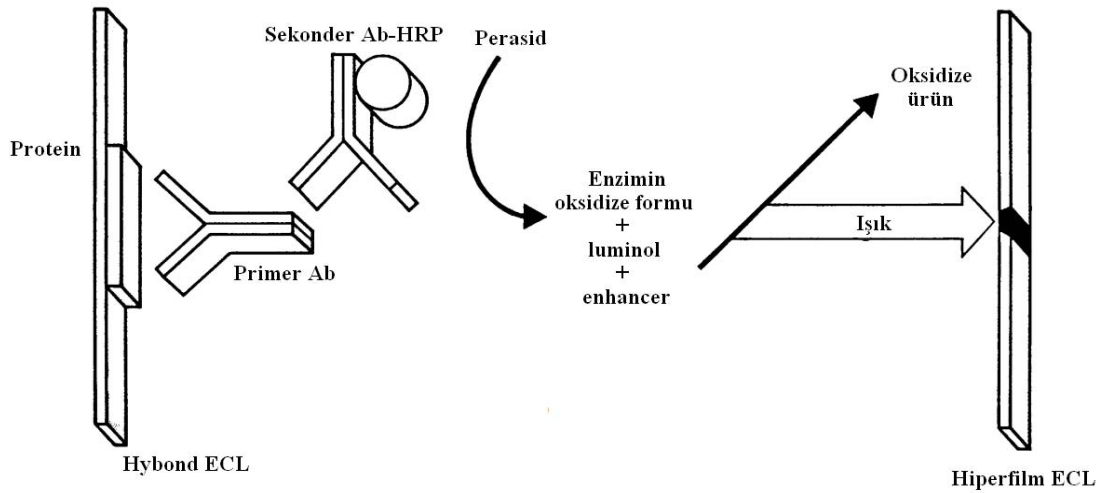
HRP ve peroksit kombinasyonu, Lumigen PS-3 Acridan substratının oksidasyonunu katalizler ve dakikada binlerce akridinyum ester ara ürünlerini oluşturur. Bu ara ürünler, hafif alkali şartlarda peroksit ile reaksiyona girer ve 430 nm dalga boyunda maksimum emisyon vererek devamlı ve yüksek yoğunlukta kemilüminesans üretirler.

Sonuçta ışık, bir otoradyografi filminde (Hyperfilm™ ECL) tayin edilir. ECL Plus Western blot deteksiyonu, en iyi performansı Hybond TM-P PVDF membran kullanımı ile göstermektedir ancak Hybond ECL nitroseluloz membran ile de uyumludur. Kullanılan immün tayin sistemine bağlı olarak da ECL Western blot üzerinden 4 ile 20 kattan fazla sensitivite artışı görülebilir.



Şekil 25: Lumigen PS-3'ün horseradish peroksidaz ile kimyasal reaksiyonu.

Ayrıca, ECL Plus'tan gelen sinyalin devamlılığı, PVDF membran kullanımı ile daha da uzamaktadır, hatta, deteksiyon reaksiyonunun başlangıcından sonra 24 saate kadar başarılı ışınlamaya izin vermektedir.



Şekil 26: ECL Western blot prensibi.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenen (Proje no: TST-09-947) ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanan bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirildi.

3.1.GEREÇ

Biyokimyasal ölçümlerde analitik saflıkta Sigma ve Merck marka kimyasal maddeler kullanıldı. Çalışma sırasında saf su cihazları (MINI pure, EASYpure RF), spektrofotometre (Shimadzu UV-1601), santrifüj (NÜVE NF 800), hassas terazi (Precisa 404 M SCS), pH metre (perpHect LogR meter model 330), etüv (ATI ORION NÜVE EN500), derin dondurucu (ARISTON), manyetik karıştırıcı (Labor Brand Hotplate Stirrer), vortex (nüve NM 110), buzdolabı (ARÇELİK), mikro ELISA okuyucu (sunrise TECAN), mikro ELISA yıkayıcı (TECAN), mikropate shaker (P SELECTA ROTATERM), homojenizatör (Ultra-Turrax T 25 basic IKA-WERKE), sonikatör (HD 2070 max power Bandelin Sonoplus), balon jojeler, cam-polipropilen ve ependorf tüpler, otomatik pipetler (SOCOREX), beher, mezür ve cam pipetler kullanıldı. Cam malzemeler ve polipropilen tüpler kullanılmadan önce demineralize edildi.

3.2.ÇALIŞMA GRUBU

Hasta grubu: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bölümüne başvuran (Eylül 2009- Mayıs 2011 tarihleri arasında), laboratuvar bulguları ile şüphelenilip endoskopik olarak mide kanseri düşünülen, daha sonra ise histopatolojik olarak mide kanseri tanısı konmuş klinik metastaz bulgusu olmayan 30 erkek çalışma kapsamına alındı. Bu gruptan, kan ve endoskopi sırasında kanserli mide dokusundan biyopsi örnekleri alındı. Hasta grubuna ikincil malignite öyküsü, hipertansiyon, diabetes mellitus ve diğer metabolik hastalık öyküsü olan hastalar ile hepatik ve renal fonksiyon bozukluğu olan hastalar dahil edilmedi.

Kontrol grubu: 2 şekilde düzenlendi; 1.grup: Vücut kitle indeksi açısından benzer, dispepsi nedeniyle gastroenteroloji polikliniğe başvuran ve endoskopi bulguları normal olan kişiler arasından seçilen 25 erkek birey oluşturdu. Bu gruptan endoskopi sırasında mide biyopsi örnekleri ve endoskopi sonrası açlık tam kan örneği alındı. 2.grup: Hasta grubundan kanserli bölgeden biyopsi için doku alınırken, kanserli bölgenin dışından tümöre komşu normal mide dokusundan yine doku biyopsileri alınarak doku leptin reseptör protein seviyesinin ve doku leptin seviyesinin tayininde 2. bir kontrol olarak kullanıldı. Kan örneklerinden elde edilen serum alikotlar halinde ve doku örnekleri -80 °C’de dondurularak saklandı.

Çalışma ve kontrol grubundaki kişilerin öyküleri alınarak fizik muayene bulguları, rutin laboratuvar bulguları ve klinik izlemleri form düzenlenerek her birey için ayrı-ayrı belirlendi.

3.3.YÖNTEM:

Çalışma gruplarının serum ve doku örneklerinde biyokimyasal çalışmalar yapıldı.

3.3.2.Biyokimyasal çalışma

Tetkikler için 12 saat açlığı takiben sabah 08:00 ile 09:00 saatleri arasında venöz kan alındı. Tüpe alınan örnekler 10 dakika süre ile 2000 devirde santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Elde edilen serumlar alikotlar halinde ayrılıp -80 °C de saklandı.

Alikotlar halinde dondurularak çalışma gününe kadar saklanan serum örneklerinde leptin seviyesi, solubl leptin reseptör düzeyi, TNF- α seviyesi, IL-6 seviyesi, solubl IL-1 decoy (tuzak) reseptör seviyesi ticari kitler kullanılarak ELISA ile çalışıldı.

Mide dokusunda leptin seviyesi ticari kit kullanılarak ELISA ile ve leptin reseptör protein seviyesi Western blot yöntemi ile değerlendirildi.

3.3.2.1.Serum leptin seviyesi tayini

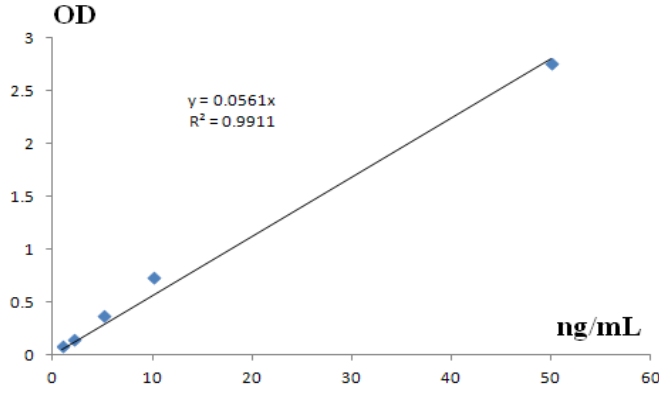
Örnekler BioVendor Human Leptin ELISA kit prosedürüne göre çalışıldı ve sonuçlar ng/ml olarak verildi. Test öncesi serum örnekleri ve standartlar dilüsyon buffer ile 3 kat dilüe edildi. Yıkama solüsyonu, distile su ile 10 kat dilüe edilerek hazırlandı.

Çözeltiler

- Stansart seri
- Yüksek kontrol
- Düşük kontrol
- Konjugat solüsyonu
- TMB (3,3',5,5'-tetrametil benzidin dihidroklorid) substrat solüsyonu
- Stop solüsyonu
- Yıkama tamponu
- Örnek dilüsyon tamponu

Çalışma:

- 1- Standartlar, yüksek ve düşük kontroller, kör (dilüsyon tamponu) ve serum örnekleri kit içerisinde verilen mikropalak kuyucuklarına pipetlendi.
 - 2- Mikropalak 1 saat oda sıcaklığında (25° C), mikropalak karıştırıcıda bekletildi.
 - 3- Yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 3 kere yıkandı.
 - 4- Her bir kuyucuğa 100 µl konjugat solüsyonu eklendi.
 - 5- Mikropalak, oda sıcaklığında 1 saat mikropalak karıştırıcıda bekletildi.
 - 6- Yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 3 kere yıkandı.
 - 7- Her bir kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonu direkt güneş ışığından korunarak eklendi.
 - 8- Mikropalak 10 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildi.
 - 9- Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu eklenerek renk oluşumu durduruldu.
 - 10- 5 dakika içinde, mikropalak okuyucu ile 450 nm'de absorbanslar okundu.
 - 11- Standart konsantrasyonlarına karşılık gelen OD değerleri kullanılarak, serum leptin standart grafiği çizildi. Absorbanslar ng/mL olarak belirtildi.
- Konsantrasyonu 0 ng/mL olan kuyucuğun OD değeri, numune, kontrol ve standartların absorbans değerlerinden çıkarıldı.



Şekil 27: Serum leptin konsantrasyonu standart grafiği.

3.3.2.2.Mide leptin seviyesi tayini

Biyopsi örnekleri endoskopik muayene sırasında elde edildi, yaş ağırlıkları tartılıp, dondurulup -80 °C’de saklandı. Dokular, cam teflon homojenizasyon aleti ile homojenize edildi, hemen ardından sonikatör ile sonikasyona tabi tutuldu. Homojenatlar 10000 g x 10 dakika santrifüj edildi, elde edilen süpernatant alikotlar halinde dondurulup, -80 °C’de çalışma gününe kadar saklandı.

Bütün hastaların ve kontrol grubunun vücut kitle indeksi (BMI), Quetelet İndeksi kullanılarak hesaplandı. Quetelet İndeksi=Kilo (kg)/Boy (m²).

BioVendor Human Leptin ELISA kit prosedürüne göre mide leptin seviyesi çalışıldı. Test öncesi örnekler ve standartlar dilüsyon tamponu ile 3 kat dilüe edildi. Yıkama solüsyonu, distile su ile 10 kat dilüe edilerek hazırlandı.

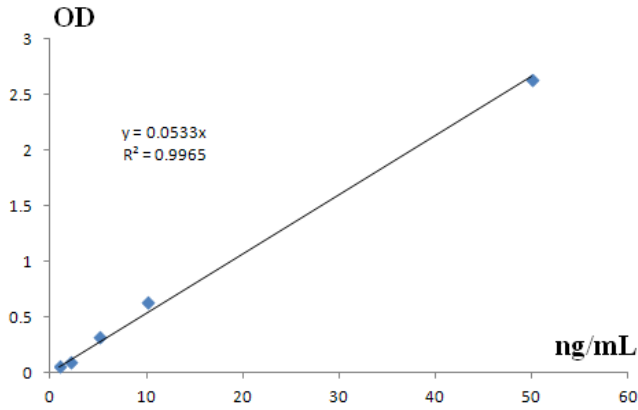
Çözeltiler

- Standart seri
- Yüksek kontrol
- Düşük kontrol
- Konjugat solüsyonu
- TMB (3,3’5,5’-tetrametil benzidin dihidroklorid) substrat solüsyonu
- Stop solüsyonu
- Yıkama tamponu
- Örnek dilüsyon tamponu

Çalışma:

1-Standartlar, yüksek ve düşük kontroller, kör (dilüsyon tamponu) ve örnekler kit içerisinde verilen mikropalak kuyucuklarına pipetlendi.

- 2- Mikroplak 1 saat oda sıcaklığında (25° C) mikroplak karıştırıcıda bekletildi.
- 3- Yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 3 kere yıkandı.
- 4- Her bir kuyucuğa 100 µl konjugat solüsyonu eklendi.
- 5- Mikroplak, oda sıcaklığında 1 saat mikroplak karıştırıcıda bekletildi.
- 6- Yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 3 kere yıkandı.
- 7- Her bir kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonu direkt güneş ışığından korunarak eklendi.
- 8- Mikroplak 10 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildi.
- 9- Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu eklenerek renk oluşumu durduruldu.
- 10- 5 dakika içinde, mikroplak okuyucu ile 450 nm’de absorbanlar okundu.
- 11- Standartlar kullanılarak standart eğri çizildi ve numunelerin absorbanlarına karşılık gelen leptin konsantrasyonları ng/mL olarak belirtildi.



Şekil 28: Mide leptin konsantrasyonu standart grafiği.

3.3.2.3.Solubl leptin reseptör seviyesi tayini

Serum örnekleri, BioVendor Human Leptin Reseptor ELISA kit prosedürüne göre çalışıldı. Test öncesi serum örnekleri ve standartlar dilüsyon buffer ile 3 kat dilüe edildi. Yıkama solüsyonu, distile su ile 10 kat dilüe edilerek hazırlandı.

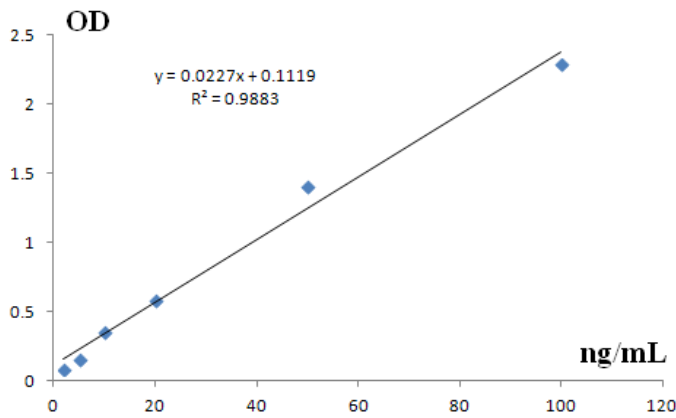
Çözeltiler

- Standart seri
- Yüksek kontrol
- Düşük kontrol
- Konjugat solüsyonu
- TMB (3,3',5,5'-tetrametil benzidin dihidroklorid) substrat solüsyonu
- Stop solüsyonu
- Yıkama tamponu

- Örnek dilüsyon tamponu

Çalışma:

- 1- Dilüe standartlar, yüksek ve düşük kontroller, kör (dilüsyon tamponu) ve örnekler kit içerisinde verilen mikropalak kuyucuklarına pipetlendi.
- 2- Mikropalak 1 saat oda sıcaklığında (25° C) mikropalak karıştırıcıda bekletildi.
- 3- Yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 5 kere yıkandı.
- 4- Her bir kuyucuğa 100 µl konjugat solüsyonu eklendi.
- 5- Mikropalak, oda sıcaklığında 1 saat mikropalak karıştırıcıda bekletildi.
- 6- Yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 5 kere yıkandı.
- 7- Her bir kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonu direkt güneş ışığından korunarak eklendi.
- 8- Mikropalak 10 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildi.
- 9- Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu eklenerek renk oluşumu durduruldu.
- 10- 5 dakika içinde, mikropalak okuyucu ile 450 nm’de absorbanslar okundu.
- 11- Standartlar kullanılarak standart eğri çizildi ve absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar ng/mL olarak belirtildi.



Şekil 29: Serum solubl leptin reseptör konsantrasyonu standart grafiği.

3.3.2.4.TNFα seviyesi tayini

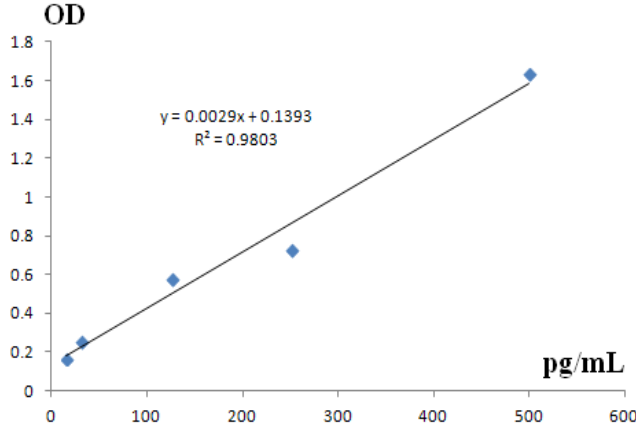
Serum örnekleri, BOSTER marka insan TNF-α ELISA kiti prosedürüne göre çalışıldı. Serum örnekleri dilüsyon tamponu ile 1:10 oranında dilüe edildi. Standartlar kit prosedüründe belirtildiği şekilde dilüsyon tamponu ile dilüe edilerek hazırlandı. Yıkama solüsyonu olarak 0.01 M PBS çözeltisi hazırlandı. Kit prosedürüne uygun olarak biyotinize anti-human TNF-α antikoru çalışma solüsyonu ve ABC çalışma solüsyonu hazırlandı.

Çözeltiler

- Standart seri (15.6; 31.3; 62.5; 125; 250; 500; 1000 pg /mL)
- Biotinize anti-human TNF- α antikor
- ABC çalışma solüsyonu
- TMB (3,3',5,5'-tetrametil benzidin dihidroklorid) substrat solüsyonu
- TMB stop solüsyonu
- Yıkama solüsyonu (0.01 M PBS)
- Örnek dilüsyon tamponu

Çalışma:

- 1-1000 pg/mL , 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62.5 pg/mL, 31.3 pg/mL, 15.6 pg/mL TNF α içeren standart solüsyonlar hazırlandı ve her biri kendi kuyucuklarına 100'er μ l pipetlendi. Kör olarak dilüsyon tamponu 100 μ l pipetlendi.
- 2- Mikroplak, 37 ° C'de 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 3- Mikroplak, kurutma kağıdına ters çevrilerek içeriği boşaltıldı.
- 4- Daha önce kit prosedürüne uyularak hazırlanan biyotinize anti-human TNF- α antikor çalışma solüsyonundan her bir kuyucuğa 100'er μ l pipetlendi. Mikroplak, 60 dakika 37 ° C'de inkübasyona bırakıldı.
- 5- Yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 3 kere yıkandı.
- 6- Her bir kuyucuğa 100 μ l, kit prosedürüne uyularak hazırlanan, ABC çalışma solüsyonundan pipetlendi. Mikroplak, 30 dakika 37 ° C'de inkübasyona bırakıldı.
- 7- Yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 5 kere yıkandı.
- 8- TMB renk geliştiren solüsyonundan 90'ar μ l her bir kuyucuğa pipetlendi ve mikroplak karanlık ortamda 20-25 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 9- Her bir kuyucuğa 100'er μ l TMB stop solüsyonu pipetlendi. Rengin sarı olduğu gözlemlendi.
- 10- 30 dakika sonra optik dansiteler mikroplak okuyucuda 450 nm.de okundu.
- 11- Standartlar kullanılarak çizilen grafik yardımıyla numunelerin TNF- α konsantrasyonları pg/mL olarak hesaplandı.



Şekil 30: Serum TNF- α konsantrasyonu standart grafiği.

3.3.2.5.İnterlökin-6 seviyesi tayini

Serum örneklerinde IL-6 seviyesi, ticari olarak bulunan ELISA sandviç metodu ile BOSTER marka insan IL-6 kit prospektusuna uygun olarak tayin edildi.

Çözeltiler

- Standart seri (4.69; 9.38; 18.75; 37.5; 75; 150; 300 pg /mL)
- Anti-human IL-6 antikorlu çalışma solüsyonu
- ABC çalışma solüsyonu
- TMB (3,3',5,5'-tetrametil benzidin dihidroklorid) substrat solüsyonu
- TMB stop solüsyonu
- Yıkama solüsyonu (0.01 M PBS)
- Örnek dilüsyon tamponu

Çalışma:

1-300 pg/ml, 150 pg/ml, 75 pg/ml, 37.5 pg/ml, 18.75 pg/ml, 9.38 pg/ml ve 4.69 pg/ml IL-6 içeren standart solüsyonlar hazırlandı ve her biri kendi kuyucuklarına 100'er μ l pipetlendi. Kör olarak dilüsyon tamponu 100 μ l pipetlendi.

2-Dilüe hasta ve kontrol serumları kuyucuklara 100 μ l pipetlendi.

3- Mikroplağın üstü koruyucu ile kapatılıp 37°C' de 90 dakika inkübasyon için etüve bırakıldı.

4- Mikroplak içeriği kurutma kağıdına ters çevrilerek döküldü.

5- Her bir kuyucuğa 100'er μ l anti-human IL-6 antikorlu çalışma solüsyonu pipetlendi ve mikroplak 37 °C'de 60 dakika inkübasyon için etüve bırakıldı.

6- Mikroplak 3 kere 0.01 M PBS ile yıkandı.

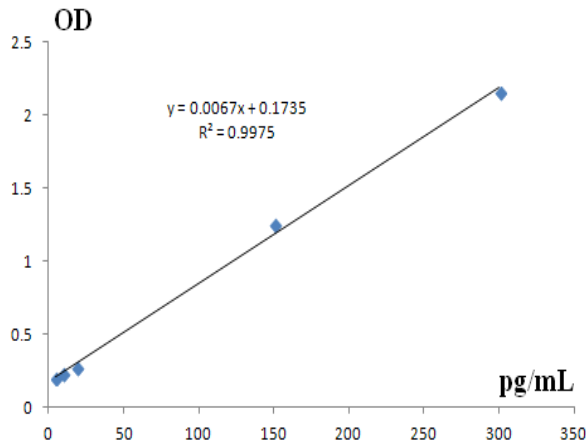
7- Her bir kuyucuğa 100'er µl ABC çalışma solüsyonu pipetlendi ve mikroplak 37°C'de 30 dakika inkübasyon için etüve bırakıldı.

8- Mikroplak 5 kere 0.01 M PBS ile yıkandı.

9-Her bir kuyucuğa 90'ar µl TMB renk geliştiren solüsyonundan pipetlendi ve mikroplak 37°C'de 30 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı.

10-Her bir kuyucuğa 100'er µl TMB stop solüsyonu pipetlendi. Rengin sarı olduğu gözlemlendi. Stop solüsyonunu pipetledikten 30 dakika sonra, mikroplak okuyucuda 450 nm.de optik dansiteler okundu.

11-Standartlar kullanılarak çizilen grafik yardımıyla numunelerin IL-6 konsantrasyonları pg/mL olarak hesaplandı.



Şekil 31: Serum IL-6 konsantrasyonu standart grafiği.

3.3.2.6.Solubl IL-1 decoy (tuzak) reseptör seviyesi tayini

Serum örneklerinde, solubl IL-1 decoy (tuzak) reseptör seviyesi ticari olarak bulunan ELISA sandviç metodu ile ADIPO BIOSCIENCE marka insan solubl IL-1tuzak reseptör kit prospektusuna uygun olarak tayin edildi.

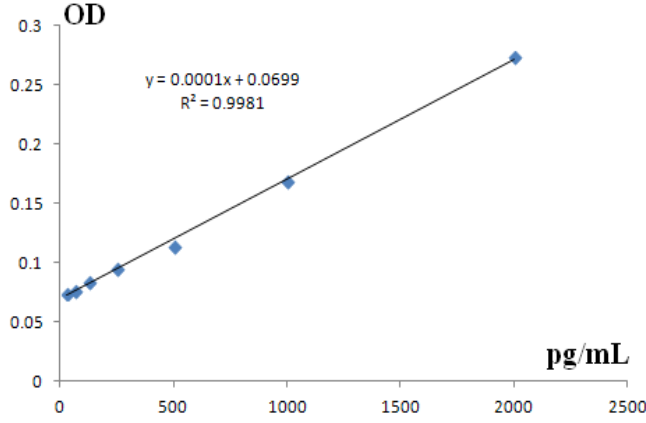
Çözeltiler

- Standart seri
- Detection antikör
- Streptavidin-HRP Conjugat çalışma solüsyonu

- TMB stop solüsyonu
- Yıkama solüsyonu
- Örnek dilüsyon tamponu
- Substrat solüsyonu
- Stop solüsyonu
- Yıkama solüsyonu (0.01 M PBS)
- Örnek dilüsyon tamponu

Çalışma:

- 1- Gereken solüsyonlar ve çalışma standartları kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı.
- 2- Kuyucuklara 100'er µl dilüsyon tamponu (kör için), standartlar, serum örnekleri ve pozitif kontrol pipetlendi.
- 3- Mikroplak oda sıcaklığında mikroplak karıştırıcıda 2 saat inkübasyona bırakıldı.
- 4- Mikroplak 4 kere yıkama solüsyonu ile yıkandı.
- 5- Her bir kuyucuğa 100'er µl detection antikor pipetlendi.
- 6- Mikroplak 4 kere yıkama solüsyonu ile yıkandı.
- 7- Her bir kuyucuğa 100'er µl Streptavidin-HRP Conjugat çalışma solüsyonu pipetlendi. Işıktan koruyarak, mikropipet çalkalayıcıda 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- 8- Mikroplak 4 kere yıkama solüsyonu ile yıkandı.
- 9- Her bir kuyucuğa 100'er µl substrat solüsyonu pipetlendi. Oda sıcaklığında 8-12 dakika ışıktan koruyarak inkübasyona bırakıldı.
- 10- Her bir kuyucuğa 100'er µl stop solüsyonu pipetlendi.
- 11- Kuyucuklarda oluşan rengin şiddeti 15 dakika içinde, 450 nm'de mikroplak okuyucu ile okundu.
- 12- Standartlar kullanılarak absorbensler üzerinden miktar tayini yapıldı. Sonuçlar pg/mL olarak verildi.



Şekil 32: Serum solubl IL-1 decoy (tuzak) reseptör standart grafiği.

3.3.2.7.Mide leptin reseptör protein seviyesi tayini

Biyopsiler endoskopik muayene sırasında elde edildi ve yaş ağırlıkları tartılıp, dondurulup -80 °C’de saklandı. Çalışma günü, doku numuneleri önce homojenizasyon ardından sonikasyon işlemlerinden sonra RIPA tamponunda (0,1 mg/ml PMSF, 100 µM benzemidine, 100 mM Na₃VO₄) 4°C’de 2000 devirde 10 dakika süre ile 3 kez yıkandı. Doku örneklerinden elde edilen süpernatantlarda, Lowry ve ark.nın tayin metodu prosedürüne uyularak, spektrofotometrik ölçüm ile total protein miktarı ölçümü yapıldı.

Lowry’nin protein tayini

Lowry prosedürü (297), 1951 yılında tariflenmiş olup bugün en yaygın kullanılan protein tayin yöntemlerinden biridir. Alkali koşullarda, bakır protein ile kompleks oluşturur. Folin-fenol reaktifi (fosfo-molibdik-fosfotungstik reaktifi) eklendiğinde, proteinlere bağlanır. Bağlı reaktif yavaş bir şekilde indirgenir ve renk sarıdan maviye dönüşür.

Stok solüsyonlar

LowryA: % 2 Na₂CO₃ (0.1 N NaOH içerisinde)

Lowry B: % 1CuSO₄ (distile H₂O içerisinde)

Lowry C: % 2 Sodyum potasyum tartarat (NaKC₄H₄O₆.4H₂O) (distile H₂O içerisinde)

Lowry stok reaktifi

49 mL Lowry A

0.5 mL Lowry B

0.5 mL Lowry C

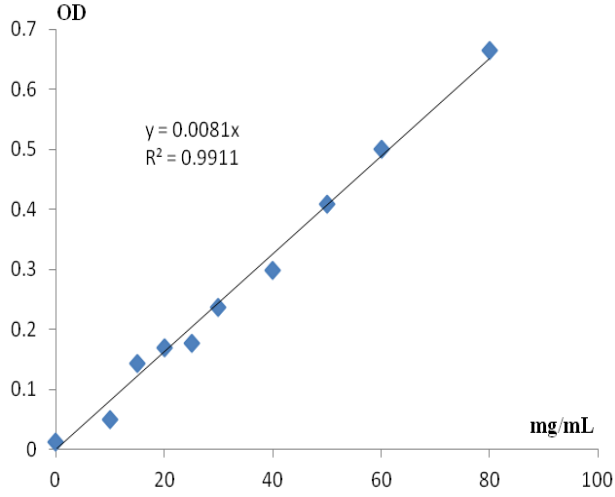
Folin's Reaktifi: Fenol reaktifi- 2N (Folin-Ciocalteu reaktifi). 1:1 oranında distile su ile kullanımdan hemen önce hazırlanır.

Standart: Bovin serum albümini kullanılır. Standartlar PBS tamponu ile dilüe edilir. 5 mL distile suda 5 mg (1 µg/µl) olarak hazırlanır (BSA Standardı - 1 mg/mL).

Prosedür

1. Numuneler önce 1:4 oranında PBS tamponu ile dilüe edildi. Her bir tüpe 100 µL dilüe numune pipetlendi (numune + tampon=100 µL). 13 adet, her birinden de üçer adet olmak üzere 39 adet standart tüpü hazırlandı.
2. Her bir tüpe 1.0 mL Lowry stok reaktifi pipetlendi.
3. Tüpler 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
4. Folin's reaktifinden her bir tüpe 100 µL pipetlendi.
5. Tüpler 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
6. Spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda okuma yapıldı.

Protein standardı (Mikrogram= µg)	Standart (Mikrolitre= µL)	Tampon (Mikrolitre= µL)
0	0	100
5	5	95
10	10	90
15	15	85
20	20	80
25	25	75
30	30	70
40	40	60
50	50	50
60	60	40
75	75	25
80	80	20
100	100	0



Şekil 33: Lowry's protein standart grafiği.

Standart grafiği yardımıyla, numunelerin OD'lerine karşılık gelen protein miktarları hesaplandı, dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuçlar belirlendi. Protein miktarı belirlenen dokulardan en yüksek protein içeren 3 hasta tümör dokusu, 3 hasta normal mide dokusu ve 3 kontrol mide dokusu proteinleri % 8'lik SDS PAGE (20 µg total protein) elektroforez ile ayrıldı. Akabinde proteinler, nitrosellüloz kağıda Western blot yöntemi ile transfer edildi ve poliklonal anti-leptin antikorları ile inkübe edilip ECL deteksiyon sistemi ile tayin edildi.

4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz, Windows için SPSS 15.0 paket programı ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren sayısal değişkenlerin özet istatistikleri aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma ($X \pm SD$) olarak verildi. Normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenlerin özet istatistikleri için median (%25.-%75. persentil) değerleri kullanıldı. Hasta ve kontrol grubunda median değerler hesaplandıktan sonra hasta ve kontrol grubu içindeki bağımsız örneklerin karşılaştırılmasında t-testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen çalışma gruplarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Gruplar içerisinde korelasyonlar Spearman testi ile analiz edildi. İstatistiksel analizler $p<0.05$ ise anlamlı kabul edildi.

5.BULGULAR

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bölümü'nde endoskopik biyopsi sırasında mide kanseri düşünülen 30 erkek hasta ile hasta grubu oluşturuldu. Endoskopik muayenesi yapılan 25 sağlıklı erkek birey de kontrol grubunu oluşturdu.

5.1.KLİNİK BULGULAR

Endoskopik biyopsilerinin patolojik tanıları mide kanseri olarak gelen 30 erkek hastadan oluşan hasta grubunun yaş ortalaması 64.26 ± 9.84 , sağlıklı 25 erkek hastadan oluşan kontrol grubunun yaş ortalaması ise 42.32 ± 13.89 idi.

Vücut kütle indeksi (VKİ) değerleri, hasta grubunda 24.77 ± 3.61 , kontrol grubunda ise 25.87 ± 2.85 olarak tesbit edildi.

Tablo 2: Çalışma Gruplarının Yaş ve VKİ Değerleri

	Çalışma Grupları		p
	Hasta (n=30)	Kontrol (n=25)	
YAŞ	64.26 ± 9.84^a	42.32 ± 13.89^b	< 0,001
VKİ	24.77 ± 3.61^a	25.87 ± 2.85^a	> 0,05

Veriler, $X \pm SD$ olarak gösterildi.

^{a,b}: Aynı harflerin yer aldığı gruplarda fark bulunmamaktadır.

Mide kanserli hasta grubunun yaş ortalamasının, kontrol grubunun yaş ortalamasından büyük olduğu görüldü. Her iki grubun yaş ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olarak değerlendirildi.

VKİ açısından ise hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak bir fark görülemedi ve $p>0,05$ olarak değerlendirildi.

5.2.BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA BULGULARI

5.2.1.Serum Leptin Düzeyi

Tablo 3: Çalışma Gruplarının Serum Leptin Düzeyi Değerleri

SERUM LEPTİN	n	median (ng/mL)	%25	%75	p
Hasta	30	2.22	0.76	7.01	0,027
Kontrol	25	4.63	2.75	9.25	

Hasta grubunun serum leptin değerleri, kontrol grubunun serum leptin değerlerine göre daha düşük olarak ölçüldü. Bu iki grubun serum leptin median değerlerinin arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p<0.05$).

5.2.2.Mide Leptin Düzeyi

Mide kanserli hastalardan alınan tümöral doku örneklerinde çalışılan doku leptin değerleri, yine aynı mide kanserli hastaların tümöre komşu normal mide dokularından alınan endoskopik biyopsilerden (kontrol 1) ve kontrol grubundan alınan normal mide doku örneklerinden (kontrol 2) numerik olarak daha yüksek tespit edildi. Ayrıca, mide kanserli hastaların tümöre komşu normal mide dokularından alınan endoskopik biyopsilerinden elde edilen leptin düzeyleri de normal mide doku örneklerine göre numerik olarak yüksek tespit edildi. Ancak, bu 3

grup arasındaki doku leptin median değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı. ($p>0.05$).

Tablo 4: Çalışma Gruplarının Mide Leptin Değerleri

MİDE LEPTİN	n	median (ng/mL)	%25	%75	p
Hasta	30	26.45	16.21	56.93	0,45
Kontrol 1	30	21.79	12.88	34.91	
Kontrol 2	25	20.37	12.93	38.72	

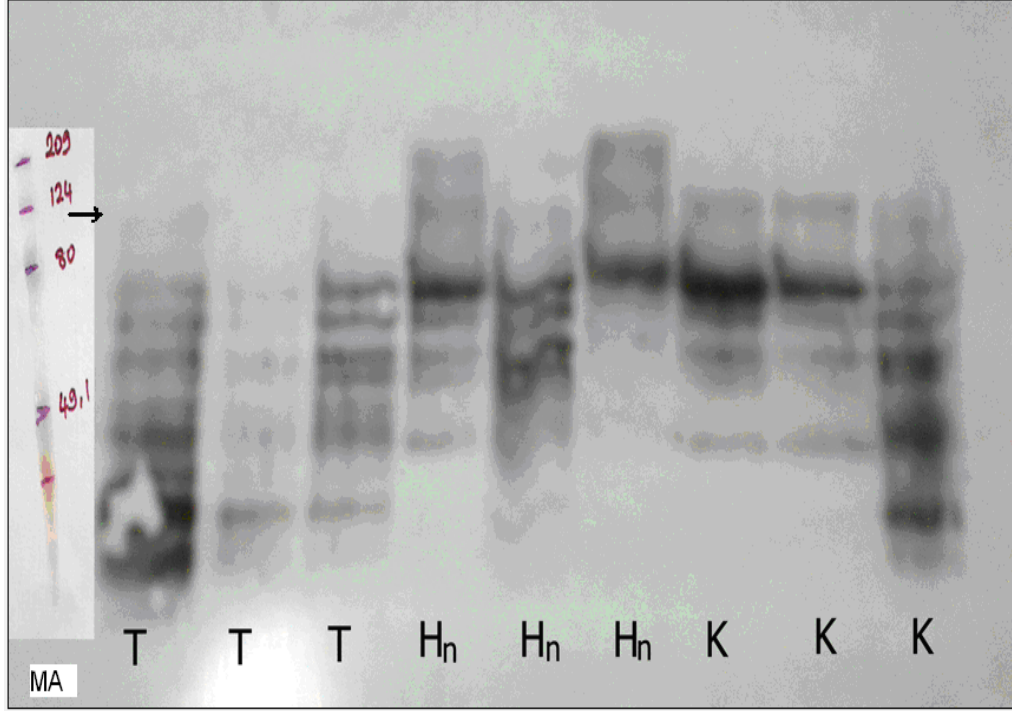
5.2.3. Solubl Leptin Reseptör Düzeyi

Tablo 5: Çalışma Gruplarının Solubl Leptin Reseptör Düzeyi Değerleri

SERUM SOLUBL LEPTİN RESEPTÖR	n	median (ng/mL)	%25	%75	p
Hasta	30	35.63	24.91	54.29	0,01
Kontrol	25	26.39	19.22	33.05	

Hasta grubunun serum solubl leptin reseptör değerleri, kontrol grubunun değerlerinden daha yüksek olarak ölçüldü. İki grup arasındaki serum solubl leptin reseptör median değerleri arasındaki fark ise istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi ($p<0.05$).

5.2.4. Mide Leptin Reseptör Protein Düzeyi



Şekil 34: İnsan midesinde leptin reseptör protein ekspresyonunun Western blot ile demografik olarak gösterilişi. (T: Tümör dokusu Hn: Hastaların normal mide dokusu K: Kontrol mide dokusu, MA: Moleküler Ağırlık Markırı)

Leptin reseptör proteini 126 kDa ağırlığındaki bantla gösterildi.

Tümör dokusunda leptin reseptör proteini düzeyi, tümöre komşu normal mide dokusuna ve kontrol grubu mide dokusuna göre azalmış olarak tesbit edildi.

5.2.5. Serum IL-1 Tuzak Reseptör (IL-1RII) Düzeyi

Mide kanserli hastalarda serum IL-1RII değerleri, kontrol grubunun değerlerinden daha düşük olarak ölçüldü.

Her iki grubun serum IL-1RII median değerleri arasındaki fark ise istatistiksel açıdan anlamlı olarak belirtildi ($p<0,05$).

Tablo 6: Çalışma Gruplarının Serum IL-1RII Düzeyi Değerleri

SERUM IL-1RII RESEPTÖR	n	median (ng/mL)	%25	%75	p
Hasta	30	3111	2631	3351	<0,003
Kontrol	25	3601	3016	3816	

5.2.6. Serum TNF- α Düzeyi**Tablo 7:** Çalışma Gruplarının Serum TNF- α Düzeyi Değerleri

SERUM TNF- α	n	median (ng/mL)	%25	%75	p
Hasta	15	58.17	17.48	98.6	0,034
Kontrol	14	16.62	7.82	30.58	

Mide kanserli hastaların serum TNF- α değerleri, kontrol grubundan daha yüksek olarak ölçüldü. Bu iki grup arasındaki TNF- α median değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p<0.05$).

5.2.7. Serum IL-6 Düzeyi

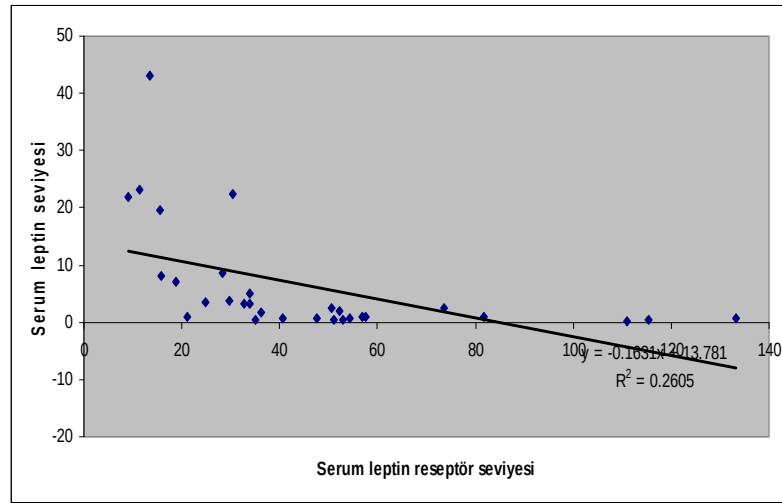
Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında mide kanserli hastaların serum IL-6 değerlerinin numerik olarak daha yüksek olduğu görüldü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 8: Çalışma Gruplarının Serum IL-6 Düzeyi Değerleri

SERUM IL-6	n	median(ng/mL)	%25	%75	p
Hasta	17	10.22	2.31	11	0,62
Kontrol	4	5.74	1.41	13.88	

5.3.KORELASYON ANALİZLERİ

Mide kanserli hasta grubunun kendi içerisinde değerlendirilmesi amacıyla yapılan korelasyon analizlerinde, serum leptin değerleri ile serum leptin reseptör değerleri arasında negatif yönde korelasyon olduğu gösterildi.

**Şekil 35:** Serum leptin ve leptin reseptör korelasyon eğrisi

Hasta grubunda serum leptin değerleri ile serum IL-1RII değerleri arasında ve serum leptin reseptör değerleri ile serum IL-1RII değerleri arasında herhangi bir korelasyon gösterilemedi.

Kontrol grubunun kendi içerisinde değerlendirilmesi amacıyla yapılan korelasyon analizlerinde ise serum leptin, serum leptin reseptör ve serum IL-1RII değerleri arasında herhangi bir korelasyon gösterilemedi.

6.TARTIŞMA VE SONUÇ

Mide kanseri sıklıkla rastlantısal olarak ve ileri komplikasyonlar ile birlikte bulunmaktadır. Hastalığın prognozu kötüdür ve birçok endüstriyel ülkede teşhisten itibaren 5 yıllık sağkalım sadece %10 olmaktadır (15). Beslenme alışkanlıkları, enfeksiyon, genetik yatkınlık, çeşitli çevresel risk faktörleri mide kanseri gelişiminde sorumlu tutulmaktadır (298).

Leptin, adipoz doku tarafından üretilen, beslenme davranışını ve kilo kontrolünü modüle eden bir hormon olarak 1994 yılında keşfedilmiştir. Yakın zamanda, midenin önemli bir leptin kaynağı olduğu ve leptinin gastrointestinal yolda çeşitli fonksiyonlar gösterdiği tanımlanmıştır. Leptin, gastrik boşalmayı geciktirmek için nervus vagus ve CCK ile etkileşir ve ince barsak motilitesi üzerinde kompleks etkilere sahiptir. Leptin, vücut ağırlığının kontrolünde önemli bir rol oynar ve ayrıca epitelyal hücreler üzerinde büyüme faktörü benzeri fonksiyonlara sahiptir. Leptin, fizyolojik ve patolojik durumlarda farklı şekillerde olmak üzere gastrointestinal yoldan makrobesinlerin emilimini modüle eder. Fizyolojik durumlarda, ekzojen leptinin karbohidrat emilimini azalttığı ve küçük peptidlerin emilimini arttırdığı gösterilmiştir. Belli patolojik durumlarda leptinin; karbohidrat, protein ve yağ emilimini arttırdığı da belirtilmiştir. Anormal leptin ve leptin reseptörü ekspresyonunun kanser gelişimi ve progresyonu ile ilişkisi olabilir denilmektedir (299).

Leptin, besin alımı ve enerji harcanımının regülasyonunda merkezi bir rol oynar. Önce olgun beyaz adipositlerde keşfedilmiş olup, daha sonra ise mide mukozasında izole edilmiştir. Bu doku, kan dolaşımına ve mide lümenine leptin sekrete eden epitelyal endokrin ve ekzokrin hücreleri içermektedir. Işık ve elektron mikroskobu ile adipositlerin ve mide epitel hücrelerinin granüllü endoplazmik retikulumları boyunca leptin içerdikleri gösterilmiştir. Her iki doku da, leptine bağlı olarak, kana ve mide suyuna sekrete edilen solubl leptin reseptör formunu sentezlerler. Bu solubl reseptör leptini korur ve yarı ömrünü uzatır. Adipositlerden ve mide epitelinden leptin sekresyon mekanizmalarındaki benzerliklere rağmen, gerçekte radikal farklar vardır. Mide hücrelerinde leptin, hızlı regüle sekresyon yollarını takip ederken, adipositler leptini yavaş sekrete ederler. Bu farklılık, bu iki farklı dokuda leptinin oynadığı spesifik rollerle açıklanabilir. Mide leptini; mide boşalmasını geciktiren, intestinal duvardan besinlerin emilimi, gastrik-intestinal ve pankreatik hormonların salınımını içeren sindirimin kısa dönem regülasyonuna dahildir. Diğer taraftan besin alımının uzun dönem regülasyonu için beyaz adipositlerden salgılanan leptin, primer olarak hipotalamusa etkir. Bu nedenle adipozun ve mide leptininin koordinasyonu, uygun besin işlenişi ve enerji depolanmasının yönetimini sağlamaktadır (300, 301).

İmmünopresipitasyon ve Western blot analizleri ile, leptinin, leptin reseptörünün ekstrasellüler kısmıyla uyumlu şekilde proteine bağlı bulunduğu gösterilmiştir. Bu solubl reseptörün yokluğunda leptin hızlıca geriler. Rat mide mukozasının immünositokimyası, bu kompleksin sekresyonuna dahil olan hücrelerin ve intrasellüler kompartmanların tanımlanmasını sağlamaktadır. Leptin reseptörünün ekstrasellüler kısmı ve leptin, granüllü endoplazmik retikulum -Golgi-granüllerinin sekresyon yolları boyunca bulunmaktadır, şef ve spesifik endokrin hücrelerin sekretuar granüllerinde bir kompleks oluşturur.

Mide kanseri nadir fakat önemli bir malignensidir. Obez bireylerde yükselen bir sitokin olan leptin ile kanser gelişimi arasındaki ilişki araştırılmaktadır. Mide kanseri gelişiminde leptin ve reseptörünün rol oynayabileceği vurgulanmaktadır. Ancak, bu şekilde sonuçlanan leptin ve leptin reseptörü arasındaki etkileşimin gerçek mekanizması henüz tam aydınlatılmamıştır.

Yapılan bir çalışmada, leptinin immün reaktif hücrelerin mide fundus bezlerinde tayin edildiği ve leptin PCR ürününün de yine mide fundus mukozasında bulunduğu gösterilmiştir. Enfeksiyon, mide leptin ekspresyonunu belirgin olarak arttırırken ve enfeksiyonun tedavisi de mide leptin ekspresyonunu belirgin olarak düşürürken tersine, ilginç olarak, serum leptin düzeyleri enfeksiyon tedavisinin ardından değişmemiş olarak bulunmuştur (302).

Yapılan çalışmalarda genel olarak serum leptin seviyeleri gastrointestinal kanserli hastalarda düşük olarak bildirilmiştir (303). Yine, yapılan bir çalışmada, üst gastrointestinal kanserlerde serum leptin düzeyi, kontrollere göre düşük bulunmuştur (304).

Enflamatuvar barsak hastalığı olan kişilerde kolon mukozasında leptinin up-regüle olduğu gösterilmiştir (305). Leptin, mide-barsak mukozal hücre proliferasyonunu stimüle eder ve apoptozu inhibe eder. Bütün bu fonksiyonlar, leptinin birçok immün regülatör etkileriyle komplike hale gelen gastrointestinal yoldaki tümörögenezide, leptinin rolü hakkında spekülasyonlara neden olmaktadır. Sonuçta leptin, iyi tanımlanmış iştah regülasyonu ve obezitedeki rollerinden bağımsız olarak, gastrointestinal sistemin majör fonksiyonlarının da önemli bir modülatör olduğunu düşündürmektedir (305).

Leptin, dolaşımda serbest ve bağlı formlarda bulunarak vücut ağırlığının regülasyonunda önemli rol oynar. Leptin reseptör izoformlarından biri dolaşımda solubl formda bulunarak leptini bağlamaktadır. Yapılan klinik çalışmalar, obez bireylerde solubl leptin reseptör (sOB-R) düzeylerinin daha düşük olduğunu göstermiştir. Diğer bir ifadeyle serum sOB-R düzeyleri VKİ ile negatif korele olarak bulunmuştur (306). Bununla birlikte başka bir çalışmada; sepsisten bağımsız olarak serum leptin veya leptin-reseptörü, hastalar ya da kontroller arasında farklı olarak bulunmamış, fakat serum leptin düzeyleri obezite ile yakın ilişkili ve metabolizma markırları ile açıkça korele bulunmuştur (307).

Yapılan çalışmalarla, obez bireylerde seviyesi yükselen bir sitokin olan leptin ile kanser gelişimi arasındaki bağlantıya dikkat çekilmiştir. Leptinin ayrıca mide kanseri

için klinik korelasyonundan söz eden ender çalışmalar da bulunmaktadırdır (121). Erken evre mide kanserli hastalarda serum leptin düzeyini gösteren çalışma yoktur. Tek bir vaka-kontrol çalışması rapor edilmiştir. Bu çalışmada, mide kanserli hastalarda leptin düzeyi belirgin olarak düşük bulunmuş, çünkü çalışmaya sadece belirgin olarak kilo kaybı olmuş metastatik kanserli hastalar dahil edilmiş ve bu nedenle bu çalışma da leptin düzeyleri ile kanser riski arasındaki ilişkiyi gösterememiştir (174). Buna karşılık yapılan bir çalışmada, mide kanserli hastalarda evre ilerledikçe leptin düzeyinin de azalmakta olduğu belirtilmiştir (308).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada da yine, bizim alışmamıdaki sonualara paralel olacak şekilde serum leptin konsantrasyonları kanser grubunda kontrollerden daha düşük bulunmuştur (174). Daha önce de belirtildiği üzere leptin, kanser patogeneğinde rol oynadığı düşünülen, primer olarak adipositlerden salgılanan bir peptid hormondur. Solubl leptin reseptör (sOB-R), leptinin fizyolojik fonksiyonlarını regüle eder ancak; kanser ile ilişkisi bilinmemektedir. Bu konu ile ilgili yapılan ender çalışmalardan birinde, kolorektal kanser ile güçlü ters ilişkili bulunmuştur (309, 310).

nemli olarak řu da vurgulanmalıdır ki, yapılan bir çalışmada, aynı cinsiyet ve 18.5-25 arasında benzer VKİ olan kanser hastaları ve sağlıklı kontrol grubu arasında, serum leptin konsantrasyonları yönünden anlamlı bir fark bulunamamıştır (309).

Yakın zamanda yapılan bir başka çalışma, mide kanseri olan malnutrisyonlu hastalarda serum leptin konsantrasyonunun, malnutrisyonu olmayan ve obez hasta gruplarından belirgin olarak daha düşük olduğunu göstermiş. Aynı cinsiyetteki kanser hastaları ve sağlıklı kontrol grubu arasında serum leptin konsantrasyonları yönünden belirgin fark gösterilememiştir (321). Benzer şekilde bu çalışmada da aynı cinsiyet ve benzer VKİ olan mide kanserli hastaların serum leptin konsantrasyonları, kontrol grubundan belirgin olarak daha düşük bulundu.

VKİ ve cinsiyet, serum leptin konsantrasyonunu etkileyen faktörler olup serum leptin konsantrasyonu VKİ ve cinsiyet ile anlamlı derecede koreledir. Kanserli hastalarda serum leptin konsantrasyonu, VKİ ve nutrisyonel statüdeki değişikliklerden etkilenir. Kanserli hastaların nutrisyonel statülerinin değerlendirilmesinde serum leptin konsantrasyonu potensiyel bir parametredir (309).

Genel olarak yapılan çalışmalarla, obezitenin, özafago-gastrik bileşke adenokarsinomunu da içine alan birçok kanser gelişimi ve kanserden ölüm için risk faktörü olduğu iyi anlaşılmamıştır. Diğer bir ifadeyle, bu ilişkiyi tanımlayan epidemiyolojik delillere rağmen kanser bağlantılı mekanizmalar hala açık değildir.

Yağ dokusundan sekrete edilen metabolik olarak aktif pro-enflamatuvar sitokinlerin ve leptinin karsinogenezde anahtar rol oynadığı, adipokinlerle yapılan kapsamlı çalışmalar neticesinde, görülmektedir (165). Sadece metastatik mide kanserli, belirgin kilo kaybı olmuş hastaların dahil edildiği bir kontrol çalışmasında hastalarda belirgin olarak düşük serum leptin konsantrasyonları bildirilmiştir, ancak leptin düzeyleri ve kanser riski ilişkisini gösteren bilgiler verilememiştir (174).

Bu çalışmada sadece erkek hastaların hasta ve kontrol grubunu oluşturmasıyla cinsiyet faktörü ortadan kaldırılmış oldu. Hasta ve kontrol gruplarında ölçülen VKİ'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmaması ise serum leptin konsantrasyonunu etkileyen diğer bir faktör olan VKİ'ni de ortadan kaldırdı. Bu durumda, hasta grubunda serum leptin seviyesindeki bu düşüklük, kansere bağlı malnutrisyon kaynaklı olabileceğini düşündürdü.

Birçok araştırmacı normal ve malign mide dokusunda leptin sistem ekspresyonunu tanımlamıştır. Ishikawa ve ark., 207 mide tümöründe leptin ve leptin reseptör ekspresyonunu tanımlamışlar ve pozitif korelasyon bulmuşlardır (156). Yüksek leptin ekspresyonunun invazyon derinliği fazla, nodal tutulum ve lenfovasküler invazyon pozitif olan, yani daha agresif tümör biyolojisi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir ancak prognoz ile ilişkisi tariflenmemiştir (156). Zhao ve ark., güçlü leptin ekspresyonunun daha çok ileri tümör evresi ve azalmış sağkalım ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (311). Ancak, Hong ve ark., serum leptin ve leptin reseptörü ekspresyonu ve tümör evresi arasında ilişki bulamamışlardır. Bunun da muhtemel sebebi çalışma büyüklüğünün, diğer bir ifadeyle denek sayısının az olması diye yorumlamışlardır (312).

Birçok araştırmacı, kötü diferansiye mide kanserleriyle karşılaştırıldığında iyi diferansiye olanlarda leptin ve leptin reseptör ekspresyonunun up-regüle paterni olduğunu belirtmişlerdir (156, 311, 312).

Yapılan bir çalışmada solubl leptin reseptör seviyesi ve gen polimorfizmi tümü erkek pediatrik akut lenfoblastik lösemi hastalarında incelenmiş ve solubl leptin reseptör plazma düzeyleri ve aşırı kilo durumu ile negatif korelasyon gözlenmiş. Grup içinde leptin ve leptin reseptör düzeyleri arasında belirgin negatif korelasyon bulunmuştur. (313).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada da, yine kolorektal kanser hastalarında; çok terimli lojistik regresyon modeli ileri evre tümörler ile doku leptin ve solubl leptin reseptörü arasında pozitif ilişki ortaya koymuştur. Diğer bir ifadeyle, yapılan bu tez çalışmasında da olduğu üzere, doku leptin düzeyindeki artış ve dolaşımdaki yüksek leptin reseptör düzeyleri kanserli hastalarda gözlenmektedir, bu durum da kanser progresyonunda solubl leptin reseptörünün ve doku leptinin rolünü düşündürmektedir (295).

Yapılan ender çalışmalardan birinde, solubl OB-R'nin en önemli leptin bağlayan protein olduğu belirtilmiş. PCOS hastalarında biyolojik olarak aktif serbest leptin seviyesinin ölçüldüğü bu çalışmada; hasta grubunda leptin veya sOB-R arasında herhangi bir korelasyon gösterilememiş (314).

Son yıllarda yapılan (projenin yazımından 5 yıl sonra) bir çalışmada; mide dokusunda leptin seviyelerine bakıldığı zaman; 110 mide kanser ve 96 kontrol mide mukoza örneğinde immünohistokimyasal yöntemle leptin düzeyi incelenmiş. Tümör dokularında leptin düzeyinin yine bu çalışma ile paralellik gösterecek şekilde normal dokulardan belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur (315).

Yine son yıllarda yapılan çalışmalarda; mide kanser dokularında leptin and solubl OB-Rb düzeyi normal dokulardan daha yüksek bulunmuş (316, 317). Bu çalışmada da yukarıda belirttiğimiz üzere mide kanser dokularında leptin hem sağlıklı bireylere göre hemde kanser hastası bireyden alınan sağlıklı doku grubuna göre yüksek bulunurken, enteresan bir şekilde, tümör dokusunda leptin reseptör proteini düzeyi, tümöre komşu normal mide dokusuna ve kontrol grubu mide dokusuna göre azalmış olarak tesbit edildi. Buda tümörle reseptör protein ekspresyonu arasındaki negatif korelasyonun bir belirteci olarak yorumlandı.

Yapılan ilginç bir çalışmada; gestasyonun 7 ile 9.haftalarında bütün mukozalarda Ob-Rb'yi (mRNA ve/veya proteini) eksprese ettiği, 8. Haftadan itibaren de mide mukozasında leptin proteininin, 11. haftada da leptin mRNA'nın tayin edildiği gösterilmiş (318).

Bütün bunların sonucunda önemli bir nokta ise; leptin ve leptin reseptörü karşılaştırıldığında; leptin-leptin reseptörü, leptin reseptörünün kendisiyle benzer fonksiyon ve biyolojik prosesleri ortaya çıkarmaktadır. Bu durum, leptin reseptörünün leptinin ekspresyonu üzerinde belirgin süpresif etkilerinin olduğunu doğrulamaktadır. Leptinin hormon aktivitesinde kayıp ve normal hücre sinyal yollarında bozukluk görülebilir. Reseptörün bloklanması rasyonel bir tedavi stratejisi olabilir.

Yine yukarıdaki bilgileri desteklercesine serum leptin ve Ob-Rb konsantrasyonunun kanserin klinik ve patolojik progresyonunun evresine bağlı olmadığı söylenmektedir. Zira, Stachowicz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada aşırı kilolu veya obez kolon kanserli hastaların, normal kilolu olanlarıyla karşılaştırdıklarında, istatistiksel olarak anlamlı, daha yüksek serum leptin düzeyleri bulmuşlar. Çalışmada kolorektal karsinomlu hastalardan alınan doku örneklerinde leptini kodlayan gene ait mRNA varlığını gösterememişler ancak referans dokularla yani kontrol grupları ile karşılaştırıldığında bütün çalışma gruplarında Ob-Rb'nin mRNA kopyalarının sayısını istatistiksel olarak belirgin yüksek bulmuşlar (319- 321).

Yapılan çalışmalarda ileri evre kanserli hastalarda, kanser progresyonu ve agresivliğinde rolü olduğunu düşündürür şekilde, dolaşımda yüksek düzeyde leptin reseptörü bulunmaktadır (295). Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlarda da benzer şekilde, VKİ açısından istatistiksel olarak fark olmayan mide kanserli hastaların serum solubl reseptör seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olarak tesbit edildi. Bununla birlikte, kanserli hastalarda kanser patogenezinde sOB-R'nin önemli potensiyel rolünü doğrulamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Epidemiyolojik çalışmalarla, artmış vücut kütle indeksi olan hastaların (ki bu durum obezitenin derecesini göstermektedir) mide kanserinden sonuçlanan artmış ölüm oranı sergilemekte olduğu gösterilmiştir. Mide leptin ekspresyonu, mide mukozası

hasarlandığında (322, 323) ve enfeksiyon varlığında artmaktadır (324). Enfeksiyon eradike edildikten sonra ise mide leptin ekspresyonunun azalması, mide kanseri patogeneğinde leptinin rol oynayabileceğini düşündürmektedir (311).

Yapılan bir başka çalışmada, mide kanser hücrelerinde (MGC-803) hücre kültürü çalışmasında, leptin, leptin reseptörü, leptin ve leptin reseptörü mRNA ekspresyonu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin artmış olarak bulunmuştur (326).

Bilinmektedir ki; hem normal mide epiteli hem de kanser hücreleri belirgin şekilde leptin eksprese etmektedir. Leptin boyaması yapılan vakalarda leptin ekspresyon düzeylerinin, tümör invazyon derinliği ile artma eğiliminde olduğu belirtilmiştir (156). Bu çalışmada ise mide kanserli hastaların tümör dokusunda mide leptin düzeyi, hasta grubunun normal mide ve kontrol grubunun mide dokusu leptin değerlerinden daha yüksek bulundu. Buda leptinin mide kanserinde bir büyüme faktörü olabileceği ihtimalini akla getirmiş oldu.

Epidemiyolojik çalışmalar dolaşımdaki enflamatuvar markırlar ve kronik hastalık riskleri arasındaki ilişkileri bildirmişlerdir.

Sitokinler, başlangıçta çeşitli immün fonksiyonları kontrol eden salgı proteinler olarak keşfedilmiş ise de bugün sitokin fonksiyonlarının, kanser dahil biyolojinin başka yönlerine de dahil olduğu açıktır (327). Uzun zamandır şüphelenilen enflamasyon ve kanser arasındaki nedensel ilişki kanıtlanmıştır (198, 328, 329). Bütün kanserlerin en az %20'si enfeksiyon ve kronik enflamasyon arasındaki ilişki içerisinde ortaya çıkmaktadır. Tümör mikroçevresinde yüksek düzeyde sitokin ekspresyonu ile birlikte yoğun enflamatuvar infiltratlar görülmektedir. Birçok sitokin, premalign hücrelerde büyüme ve sağ kalım faktörü olarak rol oynamakta ve anjiyogenezi, tümör progresyonunu ve metastazını stimüle etmekte ve hatta tümör-geliştirici enflamasyonu devam ettirmektedir (330, 331). Başlangıçta, tümör nekroz faktör (TNF) ve interlökin-6 (IL-6), en iyi karakterize edilmiş protümörojenik sitokinler olup, epitelyal hücrelerde onkogenik transkripsiyon faktörleri olan NF- κ B, AP-1 (TNF) and STAT3 (IL-6)'ü aktive etmekle suçlanmışlardır (332-335). Daha sonra, diğer birçok sitokinlerin ve diğer stimülanların NF- κ B ve STAT3'ün protümörojenik aktivasyonuna dahil oldukları gösterilmiştir. Hasta serumunda tayin edilen artmış IL-6 ekspresyonu, artmış kolorektal adenom riski ile ilişkili

bulunmuştur (336). Genel olarak, kanser hastalarının serum veya doku örneklerinde IL-6 ekspresyonu kötü prognoz ile korele bulunmuştur (337).

IL-6, pro-inflamatuvar sitokin olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtının ortaya çıkmasında rol alırlar. IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin olaya katılımlarının olduğu iştahsızlık ve çeşitli kanser olgularında görülen zayıflamanın ve genel olarak kansere bağlı ölümlerin temel nedeninin sitokinler olabileceği düşünülmektedir (338, 339). Aynı zamanda, sitokinlerin kontrol dışı, aşırı veya az üretimi ile de çok sayıda klinik rahatsızlığa neden olduğu konusunda deliller giderek artmaktadır. (340). Bu nedenle sitokinler üzerinde sadece aktivatör veya inhibitör etkinin tek başına fazla bir anlamı bulunmamakta, mümkün olduğu kadar geniş bir bakış açısından değerlendirilme yapılması gerekmektedir. IL-6 gibi inflamatuvar belirleyicilerin enfeksiyon, doku hasarı ve aktif hastalık durumlarında düzeylerinin değiştiği gösterilmiştir. Bu inflamatuvar belirleyicinin bazı kanser tipinin progresyonunda rol aldığına dair bir takım tanımlamalar olmakla beraber, dolaşımda bulunan inflamatuvar belirleyici miktarındaki değişimin mide kanseri ile olan bağlantısı net değildir (341).

Mide kanseri, inflamasyon güdümlü malignansinin de temsilciliğini yapmaktadır. IL-6'nın mide kanseri büyümesi ve progresyonunda potansiyel bir rol oynadığı öne sürülmektedir. Yapılan çalışmada mide kanserli hastalarda IL-6'nın serum konsantrasyonu sağlıklı kontrollerden belirgin olarak yüksek bulunmuştur (342).

Bu çalışmada da benzer şekilde, mide kanserli hastalarda IL-6'nın serum konsantrasyonu, kontrol grubunun değerlerinden belirgin yüksek bulundu. IL-6'nın genetik polimorfizminin gastroduodenal hastalık gelişimi ile ilişkisi yapılan çalışmalarda öne sürülmüştür (343). Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda; malign lezyonlarla IL-6 arasındaki ilişki gösterilememişken gastrik prekanseröz lezyonların gelişiminde konak-bakteri etkileşimlerini düşündüren kanıtlar sunulmaktadır (344).

IL-6 artışı mı mide kanserini artırıyor yoksa mide kanseri mi IL-6 artışına sebep oluyor sorusuna cevap ararken, yapılan hücre kültürü çalışmasında (*in vivo*); enteresan bir şekilde IL-6'nın artışı ile birlikte mide kanseri hücrelerinde de belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir (345). İnterlökin-6 (IL-6) yolağı, inflamasyon ve anjiyogenezis ile malignensi arasında bir bağlantı kurmaktadır.

Yapılan bir çalışmada, mide kanserli hastalarda serum IL-6 konsantrasyonları kontrol grubundan belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur (346). Son zamanlarda çıkan bir yayında, tümör dokuları serum IL-6 düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir. IL-6 ayrıca, invazyon derinliği ve metastaz ile de ilişkilendirilmiş. Çalışmada, IL-6 düzeylerinin hem hastalıktan bağımsız hem de toplam sağkalım ile belirgin olarak ilişkili olduğu belirtilmiş (347).

Şanghai’da bayanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise; yükselmiş plazma IL-6 düzeyleri ile artmış mide kanseri riski arasında ilişki olduğu ve uzun dönem mide kanseri riski için sistemik plazma IL-6 düzeylerinin bilgi verebileceği söylenmiş. Gelecekteki çalışmalarda kendi bulgularının doğrulanması gerektiğini de söylemişlerdir (348).

Diğer önemli bir nokta ise; yapılan çalışmalarla kanser hücrelerinin yayılımında çeşitli sitokinlerin ilişkili olduğu daha da netlik kazanmaktadır. Bu belirgin ilişkiler, yapılan bir çalışmada serum IL-6 düzeyi ve mide kanseri arasında da gözlenmiş (349). Yine yapılan bir başka çalışmada mide kanserli hastalarda IL-6 düzeyinin belirgin olarak (yaklaşık 6 kat) yükseldiği belirtilmiş (350). Bilindiği üzere, interlökin-6 (IL-6) yolağı, enflamasyon, anjiyogenez ve malignensi arasında bir bağlantı oluşturmaktadır. Son aylarda yayınlanan bir çalışmada, IL-6’nın mide kanserli hastaların serum örneklerinde yüksek düzeyde eksprese edildiği belirtilmiştir (351).

IL-6’nın malignensi büyümesi ve patogeneğinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, mide kanserli hastalarda kandaki IL-6 konsantrasyonları yüksek bulunmuş. Mide kanserinin klinikopatolojik özellikleri ile IL-6 düzeylerinin korele olduğu görülmüş. Bazı klinik araştırmalar, IL-6’nın mide kanserli hastaları için prognostik faktör olabileceğini söylemişlerdir (352, 353, 354).

Mide kanseri kansere bağlı ölümlerde ikinci en sık nedendir ve enflamasyon güdümlü bir kanser olarak görünmektedir. Mide kanserinin büyüme ve gelişiminde IL-6’nın potansiyel bir rolü olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle yapılan bir

çalışmada, mide kanserli hastalarda sağlıklı gönüllülerle karşılaştırıldığında serum IL-6 konsantrasyonları belirgin olarak yüksek bulunmuştur (342).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada serum IL-6 düzeylerinin mide kanserli hastalarda yüksek olduğu gösterilmiştir (355). Yapılan bir başka çalışmada, IL-6 için yapılan immünohistokimyasal boyamada yüksek grade mide kanser dokularında IL-6'nın düşük grade olanlardan daha fazla boyandığı gösterilmiştir. Bu da, midenin adenoması veya adenokarsinoması için klinik teşhis ve takipte IL-6'nın immünohistokimyasal ekspresyonunun yararlı olabileceğini vurgulamaktadır (356).

Koreli hasta grubu üzerinde yapılan diğer bir çalışmada serum IL-6 düzeyleri sağlıklı kontrollere göre mide adenomlu hastalarda belirgin daha yüksek olarak bulunmuştur (357). IL-6'nın multifonksiyonel sitokin olduğu bilinmektedir. Bazı insan solid tümörlerinde hastalığın prognozu ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada; sağlıklı gönüllülerden daha yüksek serum IL-6 seviyeleri mide kanserli hastalarda gözlenmiştir, bu da serum IL-6 düzeylerinin mide kanser progresyonunu gösterdiğini düşündürmüştür (272).

Bilindiği üzere, gastrointestinal hastalıklar ve konak duyarlılığı için pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokinleri kodlayan genler iyi birer markır adaydırlar. Yapılan bir polimorfizm çalışmasında; bir enflamasyon ilişkili sitokin olan IL-6 gastroduodenal hastalık gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Serum IL-6 düzeyleri tümör progresyonu ile korele ve rezeksiyon sonrası kötü sağkalım için bir bağımsız faktör olarak bulunmuştur (343).

IL-6 multifonksiyonel etkiler üreten proenflamatuvar bir sitokindir. İmmün reaksiyonların, hematopoezin ve enflamatuvar durumun regülasyonunda da önemlidir. Kanser hücrelerinin apoptozunu ve anjiyogenezin stimülasyonunu sağlayarak tümör progresyonuna katkı sağladığı da gösterilmiştir. Anti-IL-6 tedavisi, enflamatuvar otoimmün hastalıklar ve kanserde yeni bir stratejidir. Klinik çalışmalar artmış serum IL-6 konsantrasyonları mide kanserinin de dahil olduğu farklı kanser tipine sahip hastalarda gösterilmiştir. Ayrıca, çeşitli kanser tiplerinde serum IL-6 düzeylerinin tümör evresi ve hastaların sağkalımıyla korele olabileceği gösterilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, uzak metastazlı mide kanserli hastalarda metastazı olmayanlara göre serum IL-6 konsantrasyonları belirgin yüksek olarak bulunmuş. Bu sonuçlar da, serum IL-6 düzeyinin mide kanserli hastalarda prognostik faktör ve klinik korelasyonun biyolojik markırı olarak yararlı olabileceğini göstermektedir (358).

Çeşitli sitokinlerin kanser hücrelerinin yayılımı ile ilişkisi giderek açıklık kazanmaktadır. Mide kanserli hastalarda IL-6 seviyelerinin tümör yayılımındaki rolünü karşılaştırmak için yapılan bir çalışmada elde edilen sonuçlarla, serum IL-6 düzeyleri ile evre ve tümör invazyon derinliği arasında belirgin ilişki gösterilmiş. Buda; IL-6'nın kanser invazyonuna dahil olduğunu ve IL-6'nın sağkalım için prognostik bir faktör olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür (349).

Yine ülkemizde yapılan bir çalışmada IL-6, mide kanserinde değerlendirilmiş ve hastalığın evresiyle korelasyonu ve enfeksiyonla birlikteliği araştırılmış. Elde edilen sonuçlarla; IL-6 seviyesinin, sağlıklı kontrollere göre kanserli hastalarda belirgin yüksek olarak bulunmuş. Çalışmanın sonuçlarına dayanarak, IL-6'nın mide kanseri teşhisinde kullanımının yararlı olabileceği söylenmiştir (359).

Ayrıca, bilindiği üzere; IL-6'nın birçok fizyolojik fonksiyonları vardır. Koagülasyonun aktivasyonu, anjiyogenez ve enflamatuvar sitokinler tümör büyüme ve metastazı ile ilgili değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada; plazma IL-6 seviyeleri evre IV mide kanserli hastalarda belirgin artmış bulunmuş, bu da IL-6'nın metastatik mide kanserli hastalarda tanımlanmasının yararlı olabileceğini düşündürmüştür (360).

IL-6'nın immün savunma mekanizmaları ve hematopoezi regüle ettiği bilinmektedir. Ayrıca IL-6, Malign transformasyon ve tümör progresyonuna da dahil edilebilir. Kanserli hastalarda ve hücre kültürü çalışmalarında IL-6 serum değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin yükselmiş olarak bulunmuş (361, 362, 363, 364).

1990'lı yıllardan günümüze kadar yapılan bu çalışmada dahil olmak üzere yapılan çalışmalarla; serum IL-6 seviyelerinin mide kanserinde hastalığın statüsü ile korele yükseldiği ve mide kanserli tanısında ve belkide tedaviye cevabın

değerlendirilmesinde yeni bir tümör markırı olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

TNF- α , sistemik enflamasyona dahil olan bir sitokin olup akut faz yanıtını stimüle eden bir grup sitokin de üyesidir. TNF- α 'nın primer rolü immün hücrelerin regülasyonundadır. TNF- α , bir endojen pirojendir, ateş, apoptotik hücre ölümü, sepsis ve enflamasyonu indükler, tümörögenезis ve viral replikasyonu inhibe eder. TNF- α üretiminin disregülasyonu, kanser, majör depresyon ve enflamatuvar barsak hastalığı gibi çeşitli hastalıklarda işe karışmaktadır.

Kanser gelişimi ve yaşlanma kompleks bilimlerdir. Karsinogenez prosesi üzerindeki çalışmalar, TNF- α 'nın kanser gelişiminde önemli bir mediatör olduğunu göstermiştir. TNF- α mRNA düzeylerinin mide kanserinde negatif olanlarla karşılaştırıldığında belirgin olarak daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Hücre kültürü çalışmasında TNF- α , mide kanseri MKN45 and HGC27 hücre hatlarında up-regüle olarak bulunmuştur (364).

Yapılan çalışmalarda, mide kanserli hastaların TNF- α değerleri kontrollerle karşılaştırıldığında farklı sonuçlar elde edildiği durumlarda tespit edilmiştir (365, 366, 367, 368). Yapılan bir çalışmada, mide kanserli hastalarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak daha yüksek serum TNF- α konsantrasyonları bulunmuş (346).

Yine, yapılan bir başka çalışmada (369) bu çalışmada da olduğu üzere; mide kanseri grubu ile kontrol grubu arasında serum TNF- α düzeyleri karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı yüksek değerler elde edilmiş. Elde edilen bu sonuçlar, TNF- α 'nın mide kanserli hastalarda diagnostik markır olabileceğini düşündürmekte olup, genişletilmiş denemelerde bu hastaların görüntülenmesi ve muhtemel prognostik değerlendirilmesinde yararlı olabileceğinin göz ardı edilmemesi gereğini akla getirmektedir.

Buna karşılık yapılan bir başka çalışmada, midede TNF- α gibi pro-enflamatuvar sitokinleri indüklediği bilinen ve mide kanseri için bir karsinojen olan *Helicobakter pylori* tanımlanmıştır. TNF- α inducing protein (Ti- α) gen familyası analiz edilmiş ve

Ti- α 'nın, H. pylori'nin yeni karsinogenik proteinleri olduğu tespit edilmiştir. Bilinen bu gerçek ışığında, TNF- α bir endojen tümör destekleyicisidir denilmiştir (370).

Yapılan bir genetik polimorfizm çalışmasında; TNF- α 'nın Çin toplumunda mide kanseri gelişiminde önemli roller oynayabileceği gösterilmiştir (371). Yine yapılan bir diğer çalışmada; TNF- α genindeki pro-enflamatuvar polimorfizmin, mide kanseri için artmış risk ile ilişkili olduğu ve bu şekilde mide kanseri için en yüksek risk ile ilişkili bir spesifik genetik profilin tanımlanabileceği söylenmiştir (372).

Yapılan bir diğer çalışmada ise; mide kanseri Stage III veya IV olan hastalarda TNF- α değerleri yüksek bulunmuş. Bununla birlikte, Stage I veya II mide kanserli hastalar ve kontrol grubunda ise serum TNF- α değerleri arasında fark görülmemiş. Bunu da, serum TNF- α değerlerinin ileri evre mide kanseri ile ilişkili olduğunu, bu sitokinin mide kanseri için yararlı bir tümör markırı olabileceği ve kötü prognozu gösterebileceği sonucunu düşündürmektedir, şeklinde yorumlamışlardır (373).

Bununla birlikte, yapılan bir çalışmada yine; TNF-alfa değerlerinin mide kanseri için bağımsız prognostik indikatör olmadığı ve TNF-alfa'nın mide kanserindeki rolünün anlaşılması güç olduğu söylenmiştir (374).

Başka bir çalışmada; TNF- α mRNA düzeyinin belirgin olarak mide kanserli dokularda yükselmiş olduğu gösterilirken ilginç bir şekilde protein seviyesi hakkında bir bilgiye rastlanılamamıştır, bu da bize, TNF- α mRNA eksprese olduğu halde her zaman TNF'nin sekrete edilmediğini düşündürmektedir ve TNF'nin preoperatif üretiminin tümör progresyonu ile ilişkili olmadığını göstermektedir (375).

Enterasan bir şekilde; yapılan bir başka çalışmada dolaşımdaki TNF- α düzeyleri mide kanserli hastalarda belirgin olarak (yaklaşık 3 kat) düşük bulunmuştur (376).

Kanser tedavisindeki bütün çaba tümör hücrelerinin destrüksiyonu/ inhibisyonu üzerine konsantre durumdadır. Bu yoldaki başlangıç sonuçlar ümit verici ve devam eden çalışmaları doğrulayıcı görünmektedir. Solid kanserlerde faz I/II denemeleri halen devam ettiği bilinmektedir. Bu çalışma ve yukarıda belirtildiği üzere yapılan benzer çalışmalarla kanser hastalarında görülen TNF- α yüksekliğinin, TNF- α

antagonistlerinin tek başına veya konvansiyonel tedavilerle kombine olarak, en azından erken evre hastaların tanı ve tedavisinde rol oynayabileceğini görmek mümkün olabileceğini düşündürmektedir.

Pro-enflamatuvar bir sitokin olan interlökin-1 (IL-1)'in kanser, artrit, kalp hastalığı, pankreatit, multipl myelom ve inme gibi birçok hastalıkta rol oynadığı düşünülmektedir (377, 378).

Genel olarak, IL-1 reseptör ailesine bağlı bir sitokin reseptörü proteini olan interlökin alfa (IL1A), interlökin beta (IL1B) ve interlökin 1 reseptör tip I (IL1R1/IL1RA)'i bağlar ve bir tuzak reseptör olarak ligandlarının aktivitesini inhibe eder. Son birkaç yılda IL-1Ra ve IL-1 RII'nın, enflamatuvar hastalıkların tedavisinde yararları olup olmadığı yönündeki klinik çalışmalara ağırlık verilmiştir.

IL-1 sistemi, iki agonist (IL-1alfa ve IL-1beta), konverting enzimler, antagonistler, iki reseptör (IL-1RI ve IL-1RII) ve IL-1 reseptör aksesuar proteini içermektedir. IL-1RII, sinyal üretmeyen bir molekül olup tuzak reseptör olarak da bilinir. Antagonistik IL-1 mekanizmasının bir parçasıdır. IL-1'i ele geçirip, IL-1RI sinyali ile etkileşimini önleyerek fonksiyon gösterir. Daha sonra tuzak IL-1RII, IL-1'e bağlanabilir ve IL-1 reseptör aksesuar proteini kuvvetlendirir ve böylece koreseptör yarışmasıyla inhibe eder. Yine son yıllarda yapılan ve IL-1'in inhibisyonunun birçok hastalığın fare modelinde yararlı olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Temel olarak çözünür IL-1RII ölçümüyle birlikte, kronik enflamasyonla mide kanseri arasındaki bağıntı ortaya konulmaya çalışılır. Bir çalışmada IL-1RII ölçümüyle kronik enflamasyon ile over kanseri arasındaki ilişki de ortaya konulmaya çalışılmıştır. Over kanseri gelişimine enflamasyonun dahil olduğuna dair kanıt ve epitelyal over kanseri riski ile enflamasyon arasındaki ilişki bulunamamıştır. Yapılan bir diğer kanser çalışmasında; kanserli hastalarda PMN hücrelerden salgılanan sitokinlerin sIL-1RII üzerinden herhangi bir etkisi bulunamamıştır (377).

Yapılan bir başka çalışmada, solubl IL-1RII düzeyleri torakoabdominal aortik anevrizma tamir operasyonundan sonra ve sepsis sendromlu hastalarda yükseldiği gösterilmiştir (378).

Bu çalışmada ise, mide kanserli hastalarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin daha düşük seviyede serum solubl IL-1RII konsantrasyonları bulundu. Bu da kanser hastalarında önemli derecede harabiyetin göstergesi olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmanın bulguları ve literatür bilgisi birlikte değerlendirildiğinde; serum leptin, serum solubl leptin reseptör düzeyinin, IL-6 ve TNF- α düzeylerinin ayrı ayrı- diğer bir ifadeyle bireysel olarak- veya çeşitli kombinasyonlarla bakıldığı çalışmaların, - özellikle mide kanserli hastalarda olmasa bile diğer kanser (meme, prostat, karaciğer, akciğer) türlerini de içine alacak şekilde değerlendirildiği *çalışmaların*- mevcut olduğu görülmektedir.

Buna karşılık mide leptin reseptör protein seviyesinin, mide doku leptin düzeyinin ve serum solubl IL-1 tuzak (decoy) reseptör seviyesinin mide kanserli hastalarda kombine veya bireysel olarak değerlendirildiği, hatta ve hatta özellikle mide kanseri doku biyopsilerinde leptin seviyesinin çift kontrollü olarak, yine aynı şekilde mide kanseri doku biyopsilerinde leptin reseptör protein seviyelerinin çift kontrollü olarak ve western blot yöntemiyle değerlendirildiği çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın, bütün bu parametrelerin birlikte ve özellikle çift kontrol kullanılarak çalışıldığı düşünüldüğünde, literatüre sağlayacağı katkının yüksek derecede olacağı düşünülmektedir.

Metabolik olarak aktif pro-enflamatuvar sitokinlerin ve leptinin dokulardan sekresyonunun karsinogeneizde anahtar rol oynadığına inanılmaktadır. Yapılan bu çalışmada; serum leptin düzeyleri bakımından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, hasta grubunda azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. Ayrıca; çift kontrolün kullanıldığı mide doku leptin düzeylerinin ise hasta grubunda her iki kontrol grubuna göre numerik olarak artış gösterdiği tespit edildi. Serum solubl leptin reseptör düzeyleri bakımından hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu belirlendi ve yine çift kontrolün kullanıldığı mide leptin reseptör protein seviyesinde ise tümör dokuda, normal hasta

dokusuna ve sağlıklı (kontrol) bireylerden elde edilen dokuların reseptör protein seviyesine göre anlamlı derecede azalış tespit edildi.

Bilinmektedir ki; yapılan çalışmalarla serum leptin seviyesindeki yüksekliğin genel olarak obezite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada sadece erkek ve VKİ benzer olan bireyler çalışma gruplarını oluşturmakta idi ve arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakta idi. Bu da, leptinin vücut kitlesini ve metabolizmasını metabolik, nöroendokrin, reproduktif, hematopoetik sistemleri etkileyerek kontrol ettiği gerçeğini ve neticede kanserde de metabolik, nöroendokrin ve diğer sistemlerde regulatuvar bozukluklar olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

IL-6 ve TNF- α açısından yapılan bu çalışma değerlendirildiğinde ise; serum IL-6 seviyesi bakımından hasta grubunda numerik artış, benzer şekilde TNF- α düzeyinde ise yine hasta grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edilmiştir. Çeşitli hasta gruplarında, buna mide kanserli hasta grubu da dahil olmak üzere, IL-6'nın ve TNF- α 'nın serum düzeylerinin değerlendirildiği çalışmalar bulunmaktadır. Fakat, sadece VKİ açısından bir fark olmayan erkek bireylerin çalışmaya dahil edildiği bu çalışma, IL-6 ve TNF- α 'nın bu tezde geçen diğer parametreler ile birlikte değerlendirildiği ve korelasyon analizlerinin yapıldığı tek çalışma olma özelliğine sahiptir.

Pro-enflamatuvar ajan olarak salınan IL-6'nın anti-enflamatuvar etkisinin TNF- α aracılığı ile olduğu bilinmektedir. Her iki parametrenin (IL-6 ve TNF- α) mide kanserli hastalarda artışını gösteren bu çalışma ile birlikte çoğunluğun elde ettiği sonuçlarla, birçok nörolojik hastalıkta (şizofreni ve depresyon hastalarında) etkin olarak kullanıldığı bilinen IL-6'nın ve TNF- α 'nın malignensilerin büyüme ve patogenezinde rol oynadığını düşündüren bulgular dikkate alınarak kanser tanı, prognoz ve tedavisinin değerlendirilmesinde yararlı olup olmayacağı araştırılmalıdır.

Bu çalışma ile mide kanserli hastalarda ilk defa analizi gerçekleştirilen solubl IL-1 tuzak reseptör düzeylerine bakıldığında; hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalış olduğu tespit edildi. Proenflamatuvar bir sitokin olan IL-1'in başta kanser olmak üzere artrit, kalp hastalığı, pankreatit, multipl

myelom ve inme gibi birçok hastalıkta rol oynadığı düşünülmektedir. Hatırlanmalıdır ki; bilinen bilinmeyen organizmada onbinlerce milyonlarca savunma mekanizması mevcuttur. İşte; bu savunma mekanizmalarından biri olarak tanımlanan ve bir reseptör alt tipi olan IL-1 tuzak reseptör bağladığı ligandın aktivitesini inhibe eder. Bir diğer ifadeyle adında belirtildiği üzere tuzak reseptör görevi rolünü yerine getirir. Son birkaç yıldır tek-tükde olsa tuzak reseptörlerin hastalıkların özellikle enflamatuvar hastalıkların tedavisinde yararları olup olmadığı yönünde klinik olarak çalışılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte, son zamanlarda bu tez projesi yazıldıktan sonra yapılan ender birkaç çalışmayla IL-1'in inhibisyonun birçok hastalığın fare modelinde yararlı olduğu gösterilmiştir. Solubl IL-1 reseptör düzeyi ölçümüyle birlikte, bu çalışmanın bir amacı da kronik inflamasyonla mide kanseri arasındaki bağıntıyı ortaya konulmaya çalışılmış ilk çalışma olma özelliğindedir. Kanser hastalarında elde edilen düşük solubl IL-1 tuzak reseptör düzeylerine bakıldığında ise, bir şekilde bu savunma mekanizmasının ciddi boyutta kanser hastalarında harabiyete uğradığı görülmektedir.

Sonuç olarak, mide adenokarsinomlu hastalarda elde edilen bütün bu değişikliklerin tanı, prognoz ve tedavideki anlamının ortaya konabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

1. Ahmedin Jemal, Freddie Bray, Melissa M. Center. Global Cancer Statistics. CA Cancer J Clin, 2011; 61:69-90.
2. Cancer Stats Cancer Worldwide, Cancer Research UK; 2011.
3. Katherine D Crew, Alfred I Neugut. Epidemiology of gastric cancer. World J Gastroenterol 2006; 12(3): 354-362.
4. Veenstra TD, Conrads TP, Hood BL, Avellino AM, Ellenbogen RG, Morrison RS. Biomarkers: Mining the Biofluid Proteome. Mol Cell Proteomics.2005;4:409-418.
5. Zhu H, Bilgin M, Snyder M. Proteomics. Annu Rev Biochem. 2003; 72:783-812.
6. Ishikawa M, Kitayama J, Kazama S, Hiramatsu T, Hatano K, Nagawa H. Plasma Adiponectin and Gastric Cancer. Clin Cancer Res.2005; Vol. 11, 466-472.
7. Vaananen H, Vauhkonen M, Helske T, et al. Non-endoscopic diagnosis of atrophic gastritis with a blood test. Correlation between gastric histology and serum levels of gastrin-17 and pepsinogen I. Eur J Gastroenterol Hepatol.2003;15:885-91.

8. Storskrubb T, Aro P, Ronkainen J, et al. Serum biomarkers provide an accurate method for diagnosis of atrophic gastritis in a general population. *Scand J Gastroenterol* 2008;43: 1448-1555.
9. Watabe H, Mitsushima T, Yamaji Y, et al. Predicting the development of gastric cancer from combining *Helicobacter pylori* antibodies and serum pepsinogen status. *Gut*, 2005;54:764-768.
10. Tritos NA, Mantzoros CS. Leptin: its role in obesity and beyond. *Diabetologia*, 1997; 40: 1371-1379.
11. Merabet E, Dagogo-Jack S, Coyne DW, et al. Increased Plasma Leptin Concentration in End-Stage Renal Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82(3):847-850.
12. Shibata A, Longacre TA, Puligandla B, Parsonnet J, Habel LA. Histological Classification of Gastric Adenocarcinoma for Epidemiological Research: Concordance between Pathologists. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*. 2001;10:75-78.
13. Dimitrios H. Roukos, Niki J. Agnantis, Michael Fatouros, Angelos M. Kappas. Gastric Cancer: Introduction, Pathology, Epidemiology. *Gastric Cancer* 2002; 1(1): 1-3.
14. Şuayib Yalçın. Gastric cancer in Turkey -A Bridge Between West and East. *Gastrointest Cancer Res*, 2009; 3:29-32.
15. Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol*, 2005; 16: 481–488.
16. AIRD I, BENTALL HH, ROBERTS JA. A Relationship Between Cancer Of Stomach And The ABO Blood Groups. *Br Med J*. 1953; 1(4814): 799-801.
17. Doç. Dr. Metin Kapan. Mide Kanseri: Tanı ve Cerrahi Tedavi. *Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu*, İstanbul, 2001; 253-269.
18. de Vries AC, van Grieken NC, Looman CW, et al. Gastric Cancer Risk in Patients With Premalignant Gastric Lesions: A Nationwide Cohort Study in the Netherlands. *Gastroenterology*, 2008;134(4):945-952.
19. Marshall, B. J., Warren J. R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 1984;1311–1315.
20. Wroblewski LE, Peek RM Jr, Wilson KT. *Helicobacter pylori* and Gastric Cancer: Factors That Modulate Disease Risk. *Clin Microbiol Rev*, 2010; 713-739.

21. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. Helicobacter Pylori Infection And The Development Of Gastric Cancer. *N Engl J Med*, 2001; 345:784-9.
22. Nogueira AM, Carneiro F, Seruca R, et al. Microsatellite instability in hyperplastic and adenomatous polyps of the stomach. *Cancer* 1999; 86:1649-1656.
23. Daibo M, Itabashi M, Hirota T. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps. *Am J Gastroenterol* 1987;82:1016-1025.
24. Ginsberg GG, Al-Kawas FH, Fleischer DE, Reilly HF, Benjamin SB. Gastric polyps: relationship of size and histology to cancer risk. *Am J Gastroenterol* 1996;91: 714-717.
25. Park do Y, Lauwers GY. Gastric Polyps Classification and Management. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132:633–640.
26. Cherukuri R, Levine MS, Furth EE, Rubesin SE, Laufer I. Giant hyperplastic polyps in the stomach: radiographic findings in seven patients. *AJR Am J Roentgenol*. 2000;175:1445-1448.
27. Nakamura T, Nakano G. Histopathological classification and malignant change in gastric polyps. *J Clin Pathol* 1985; 38:754-764.
28. Adem Güler, Mehmet Erikoğlu, Oktay Tekeşin, Ömer Özütemiz. Mide Gündük Kanseri. *Ege Tıp Dergisi*, 2001;40(1):037-040.
29. Chen L, Tian H, Chen J, et al. Surgical management of gastric stump cancer: a report of 37 cases. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2005; 6(1): 38–42.
30. Sinning C, Schaefer N, Standop J, Hirner A, Wolff M. Gastric stump carcinoma - epidemiology and current concepts in pathogenesis and treatment. *Eur J Surg Oncol*. 2007; 3(2):133-139.
31. Tredaniel J, Boffetta P, Buiatti E, Saracci R, Hirsch A. Tobacco smoking and gastric cancer: *Int J Cancer* 1997; 72:565-573.
32. Siman, J. H, A. Forsgren, G. Berglund, C. H. Floren. Tobacco smoking increases the risk for gastric adenocarcinoma among Helicobacter pylori-infected individuals. *Scand. J. Gastroenterol*. 2001; 36:208–213.
33. Shikata K, Y. Doi, K. Yonemoto, et al. Population-based prospective study of the combined influence of cigarette smoking and Helicobacter pylori infection on gastric cancer incidence: the Hisayama Study. *Am. J. Epidemiol*, 2008;168:1409–1415.

34. Gammon MD, Schoenberg JB, Ahsan H. Tobacco, alcohol, and socioeconomic status and adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:1277-1284.
35. Ahmet Ergün. Yağ Hücrelerinden Salgılanan Maddeler, Rezistin Ve İnsülin Direnci. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 2003;56(1).
36. Berrin Zuhale Bulucu Altunkaynak, Elvan Özbek. Yağ Dokusu Endokrin Bir Organ mıdır? *Dicle Tıp Dergisi*, 2005; 32(4): 211-217.
37. Sorisky A, Gagnon AM. Clinical Implications of Adipose Tissue. *Canad J Dia* 2002; 26(3):232-234.
38. Wisse BE, Kim F, Schwartz MW. Physiology. An Integrative view of obesity. *Science* 2007; 318(5852):928-9.
39. Trayhurn P. Adipocyte biology. *Obes Rev* 2007; 8 (1): 41-44.
40. Nedvidkova J, Smitka K, Kopsky V, et al. Adiponektin, an adipocyte-derived protein. *Physiol Res* 2005; 54:133-140
41. Collins S, Kuhn CM, Petro AE, Swick AG, Chrnyk BA, Surwit RS. Role of leptin in fat regulation. *Nature*. 1996; 380:677– 684.
42. Andersson LB. Genes and obesity. *Ann Med*. 1996; 28:5–7.
43. Yiyang Zhang, Ricardo Proenca, Margherita Maffei, Marisa Barone, Lori Leopold, Jeffrey M. Friedman. Positional cloning of the mouse *obese* gene and its human homologue. *Nature*, 1994; 372, 425 – 432.
44. Chikani, Gentle P., University of Kentucky Master's Theses. Leptin Receptors In Caveolae: Regulation Of Lipolysis In 3t3-l1 Adipocytes. 2004; 382.
45. Sinha MK. Human leptin: the hormone of adipose tissue. *Eur J Endocrinol* 1997; 136:461–464.
46. Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82: 2904-2910.
47. Morash B, Li A, Murphy PR, Wilkinson M, Ur E. Leptin gene expression in the brain and pituitary gland. *Endocrinology*, 1999; 140: 5995- 5998.
48. Bado A, Lévassieur S, Le Marchand-Brustel Y, Lewin MJM.: The stomach is a source of leptin. *Nature*, 1998; 394: 790-793.
49. Wang J, Liu R, Hawkins M, Barzilai N, Rossetti L. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature*, 1998; 393: 684- 688.

50. Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P, Mercer JG. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci*, 1997; 94:11073- 11078.
51. Wauters M, Considine RV, Van Gaal LF. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: 293-311.
52. Ogunwobi OO, Beales IL. Leptin stimulates the proliferation of human oesophageal adenocarcinoma cells via HB-EGF and Tgfb α mediated transactivation of the epidermal growth factor receptor. *Br J Biomed Sci*. 2008; 65(3):121-127.
53. A. Michael Wallace. Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Ann Clin Biochem*, 2000; 37: 244-252.
54. Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin : The tale of an obesity gene. *Diabetes*, 1996; 45 : 1455-1462.
55. Spitzweg C, Heufelder AE. More clues from fat mice: leptin acts as an opponent of the hypothalamic neuropeptide Y system. *Eur J Endocrinol* 1997; 136:590–591.
56. Michael W. Schwartz, Randy J. Seeley, Stephen C. Woods, et al. Leptin Increases Hypothalamic Pro-opiomelanocortin mRNA Expression in the Rostral Arcuate Nucleus. *Diabetes*, 1997; 46:2119-2123.
57. Daniel P, Denis G, Baskin D, Michael WS. Leptin and Insulin Action in the Central Nervous System. *Nutr Rev* 2002; 60: 20–9.
58. Bray GA, Fisler J, York DA. Neuroendocrine control of the development of obesity: understanding gained from studies of experimental animal models. *Front Neuroendocrinol* 1990; 11:128–181.
59. Stellar E. The physiology of motivation. *Psychol Rev* 1954; 61:65.
60. Elmquist J, Elias C, Saper C. From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron* 1999; 22:221–232.
61. Elmquist J, Maratos-Flier E, Saper C, Flier J. Unraveling the central nervous system pathways underlying responses to leptin. *Nat Neurosci* 1998; 1:445–450.
62. Baskin DG, Figlewicz DP, Seeley RJ, et al. Insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for regulation of food intake and body weight. *Brain Res* 1999; 848:114–123.
63. Gibbs J, Young RC, Smith GP. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1973; 84:488–495.

64. Figlewicz DP, Stein LJ, West D, et al. Intracisternal insulin alters sensitivity to CCK-induced meal suppression in baboons. *Am J Physiol* 1986; 250:856–860.
65. Matson CA, Wiater M, Kuiper JL, Weigle DS. Synergy between leptin and cholecystokinin (CCK) to control daily caloric intake. *Peptides* 1997; 18:1275–1278.
66. Emond M, Schwartz G, Ladenheim E, Moran T. Central leptin modulates behavioral and neural responsivity to CCK. *Am J Physiol* 1999; 276:1545–1549.
67. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*, 1996; 334:292-295.
68. Seufert J, Kieffer TJ, Leech CA. Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999; 84:670-676.
69. Dagogo JS, Fanelli C, Paramore D, et al. Plasma leptin and insulin relationships in obese and nonobese humans. *Diabetes* 1996; 45:695-698.
70. Mantzoros CS, Flier JS, Lesem MD, et al. Cerebrospinal fluid leptin in anorexia nervosa: correlation with nutritional status and potential role in resistance to weight gain. *J Clin Leptin ve nöroendokrin düzenleme. Endocrinol Metab* 1997; 82:1845-1851.
71. Ruige JB, Dekker JM, Blum WF, et al. Leptin and variables of body adiposity, energy balance and insulin resistance in a population based study. *Diabetes Care* 1999; 22:1097-1104.
72. Wallace AM. Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Ann Clin Biochem*, 2000; 37:244-252.
73. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1996; 334: 292-295.
74. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995; 1: 1155-1161.
75. Lönnqvist F, Wennlund A, Arner P. Relationship between circulating leptin and peripheral fat distribution in obese subjects. *Int J Obesity*, 1997; 21:255-260.

76. Ostlund RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3909– 1393.
77. Ruige JB, Dekker JM, Blum WF. Leptin and variables of body adiposity, energy balance and insulin resistance in a population based study. *Diabetes Care* 1999; 22:1097-1104.
78. Arslanian S, Suprasongsin C, Kalhan SC. Plasma leptin in children: relationship to puberty, gender, body composition, insulin sensitivity and energy expenditure. *Metabolism* 1998; 47:309-312.
79. Vatten LJ, Nilsen ST, Odegård RA, Romundstad PR, Austgulen R. Insulin-like growth factor I and leptin in umbilical cord plasma and infant birth size at term. *Pediatrics*. 2002 ;109(6):1131-1135.
80. Francois F, Roper J, Goodman AJ, et al. The association of gastric leptin with oesophageal inflammation and metaplasia. *Gut*. 2008; 57(1):16-24.
81. Capelle LG, de Vries AC, Haringsma J, Steyerberg EW, Looman CW, Nagtzaam NM, van Dekken H, ter Borg F, de Vries RA, Kuipers EJ: Serum levels of leptin as marker for patients at high risk of gastric cancer. *Helicobacter*. 14(6):596-604. 2009.
82. Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J, Becker GW, Bowsher RR, Stephens TW, Caro JF.: Evidence of Free and Bound Leptin in Human Circulation . *J Clin Invest*. 1996.98(6):1277-1282.
83. Brabant G, Horn R, Mayr M, Wurster U, Schnabel D, Heidenreich F.: Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. *Diabetologia*; 2000.43: 438-42.
84. Gong D W, Bi S, Pratley RE, Weintraub BD. Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. *J Biol Chem* ; 1996.271: 3971- 3974.
85. Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab*; 81: 3419- 23.1996.
86. Cusin I, Sainsbury A, Doyle P, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. The ob gene and insulin, a relationship leading to clues to the understanding of obesity. *Diabetes* 1995; 44: 1467-1470.
87. Sliker LJ, Sloop KW, Surface PL, Kriauciunas A, LaQuier F, Manetta J, Bue-Valleskey J, Stephens TW. Regulation of expression of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. *J Biol Chem* 1996; 271: 5301-5304.

88. Gualillo O, Lago F, García M, Menéndez C, Señarís R, Casanueva FF, Diéguez C. Prolactin stimulates leptin secretion by rat white adipose tissue. *Endocrinology* 1999; 140: 5149- 5153.
89. Frühbeck G, Jebb SA, Prentice AM. Leptin: physiology and pathophysiology. *Clin Physiol*. 1998; 18:399-419.
90. Escobar-Morreale HF, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G. Thyroid hormones influence serum leptin concentrations in the rat. *Endocrinology* 1997;138: 4485- 4488.
91. Florkowski CM, Collier GR, Zimmet PZ, Livesey JH, Espiner EA, Donald RA. Low-dose growth hormone replacement lowers plasma leptin and fat stores without affecting body mass index in adults with growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol* 1996;45: 769- 73.
92. Donahoo WT, Jensen DR, Yost TJ, Eckel RH. Isoproterenol and somatostatin decrease plasma leptin in humans: a novel mechanism regulating leptin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4139- 4143.
93. Rentsch J, Chiesi M. Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes. *FEBS Lett* 1996; 379: 55-59.
94. Trayhurn P, Duncan JS, Rayner DV. Acute cold-induced suppression of ob (obese) gene expression in white adipose tissue of mice: mediation by the sympathetic system. *Biochem J* 1995; 311: 729- 733.
95. Scriba D, Aprath-Husmann I, Blum WF, Hauner H. Catecholamines suppress leptin release from in vitro differentiated subcutaneous human adipocytes in primary culture via β 1- and β -2-adrenergic receptors. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: 439- 445.
96. Frühbeck G, J Gomez-Ambrosi, FJ Muruzabal, MA Burrell. The adipocyte : a model for integration of endocrine and metabolic signalling in energy metabolism regulation. *Am J Physical Endocrine Metal*. 2001; 280 : 827-847.
97. Casabiell X, Pineir V, Peino R, et al. Gender differences in both spontaneous and stimulated leptin secretion by human omental adipose tissue in vitro: dexamethasone and estradiol stimulate leptin release in women, but not in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2149-2155.
98. Montague CT, Prins JB, Sanders L, Digby JE, O'Rahilly S. Depot-and sex-specific differences in human leptin mRNA expression. *Diabetes* 1997; 46: 342-347.

99. Schwartz M, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D. Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *NatMed* 1996; 2 : 589-593.
100. Sivan E, Whittaker P, Sinha D, et al. Leptin in human pregnancy: the relationship with gestational hormones. *Am J Obstet Gynecol.*1998; 179: 1128-1132.
101. Kristensen K, Pedersen SB, Richelsen B. Regulation of leptin by steroid hormones in rat adipose tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1999; 259: 624-630.
102. Lahlou N, Landais P, De Boissieu D, Bougne Áres P-F. Circulating leptin in normal children and during the dynamic phase of juvenile obesity. Relation to body fatness, energy metabolism, caloric intake, and sexual dimorphism. *Diabetes* 1997;46: 989-993.
103. Shimizu H, Shimomura Y, Nakanishi Y, et al. Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *J Endocrinol.* 1997; 154: 285-292.
104. Mannucci E, Ognibene A, Becorpi A, et al. Relationship between leptin and oestrogens in healthy women. *Eur J Endocrinol* 1998; 139:198-201.
105. Bützow TL, Moilanen JM, Lehtovirta M, et al. Serum and follicular fluid leptin during in vitro fertilization: relationship among leptin increase, body fat mass, and reduced ovarian response. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84: 3135-3139.
106. Wabitsch M, Blum WF, Mucbe R, et al. Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. *J Clin Invest* 1997;100: 808-813.
107. Wu-Peng S, Rosenbaum M, Nicolson M, Chua SC, Leibel RL. Effects of exogenous gonadal steroids on leptin homeostasis in rats. *Obesity*,1999; 7: 586-592.
108. Hislop M, Ratanjee B, Soule S, Marais A. Effects of anabolic- androgenic steroid use or gonadal testosterone suppression on serum leptin concentration in men. *Eur J Endocrinol* 1999; 141: 40-46.
109. Machteld Wauters, Robert V Considine and Luc F Van Gaal. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: 293-311.

110. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-432,.
111. Tartaglia LA. The leptin receptor. *J Biol Chem* 1997; 272: 6093-6096,.
112. Lee GH, Proenca R, Montez JM, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996; 379: 632-635.
113. Friedman JM. Leptin, leptin receptors, and the control of body weight. *Nutr Rev* 1998; 56: 38-46.
114. Bjorbaek C, Elmquist JK, Michl P, Ahima RS, van Bueren A, McCall AL, and Flier JS. Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. *Endocrinology* 1998; 139: 3485-3491.
115. Elmquist JK, Bjorbaek C, Ahima RS, Flier JS, and Saper CB. Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *J Comp Neurol* 1998; 395: 535-547.
116. Louis A. Tartaglia. The Leptin Receptor. *J Biol Chem* 1997; 272(10): 6093-6096.
117. Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH, and Skoda RC. Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 6231-6235.
118. Ghilardi N and Skoda RC. The leptin receptor activates janus kinase 2 and signals for proliferation in a factor-dependent cell line. *Mol Endocrinol* 1997;11: 393-399.
119. Blair A, Shaul PW, Yuhanna IS, Conrad PA, and Smart EJ. Oxidized low density lipoprotein displaces endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) from plasmalemmal caveolae and impairs eNOS activation. *J Biol Chem* 1999; 274: 32512-32519.
120. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 1996; 84: 491-495.
121. Cecilia Garofalo, Eva Surmacz . Leptin and cancer. *J Cell Physiol* 2006; 207(1): 12-22.
122. I Sobhani, A Bado, C Vissuzaine, et al. Leptin secretion and leptin receptor in the human Stomach . *Gut* 2000; 47:178-183.
123. Lewin MJ, Bado A. Gastric leptin. *Microsc Res Tech* 2001; 53:372-376.

124. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269: 540-543.
125. Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman JM, Charron MJ. Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature* 1997; 389: 374- 77.
126. Magni P, Vettor R, Pagano C, et al. Expression of a leptin receptor in immortalized gonadotropin-releasing hormone secreting neurons. *Endocrinology* 1999; 140:1581- 1585.
127. Chehab FF, Lim ME, Lu R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat Genet* 1996; 12: 318-320.
128. Bennet BD, Solar GP, Yuan JO, Thomas GR. A role for leptin and its cognate receptor in haematopoiesis. *Curr Biol* 1996; 6:1170- 1180.
129. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998; 394: 897-901.
130. Bouloumie A, Dresler HCA, Lafontan M. Leptin, the product of the Ob gene, promotes angiogenesis. *Circ Res.* 1998; 83:1059-1066.
131. Iwaniec UT, Heaney RP, Cullen DM, Yee JA. Leptin increases the number of mineralized bone nodules in vitro. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 2-12.
132. Antonio La Cava, Giuseppe Matarese. The weight of leptin in immunity. *Nat Rev Immunol* 2004; 4:371-379.
133. Yeğen B: infeksiyon ve inflamasyonda leptin. *Genel Tıp Dergisi.* 2003; 13:2
134. Fernández-Riejos P, Najib S, Santos-Alvarez J et al. Role of Leptin in the Activation of Immune Cells. *Mediators Inflamm.* 2010; 10: 1-8.
135. Faggioni, R., Fantuzzi, G., Gabay, C., Moser, A., Dinarello, C. A., Feingold, K. R., Grunfeld, C. Leptin deficiency enhances sensitivity to endotoxin-induced lethality. *Am. J. Physiol.* 1999; 276:136-142.
136. Kemal ASLAN, Zehra SERDAR, H. Asuman TOKULLUGİL. Multifonksiyonel Hormon Leptin . *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi,* 2004; 0(2):113-118.
137. Bennett, B. D., Solar, G. P., Yuan, J. Q., Mathias, J., Thomas, G. R., Matthews, W. A role for leptin and its cognate receptor in hematopoiesis. *Curr. Biol.* 1996, 6; 1170-1180.

138. Cioffi, J., Shafer, A., Zupanic, T., Smith-Gbur, J., Mikhail, A., Platika, D., Snodgrass, H. Novel B219/OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. *Nat. Med.* 1996; 2: 585-589.
139. Konopleva, M., Mikhail, A., Estrov, Z., et al. Expression and function of leptin receptor isoforms in myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes: proliferative and anti-apoptotic activities. *Blood* 1999; 93:1668-1676.
140. Gainsford, T., Willson, T. A., Metcalf, D., et al. Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hemopoietic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93:14564-14568.
141. Hirose, H., Saito, I., Kawai, T., Nakamura, K., Maruyama, H., Saruta, T. Serum leptin level: possible association with haematopoiesis in adolescents, independent of body mass index and serum insulin. *Clin.Sci.* 1998; 94: 633-636.
142. Wilson, C. A., Bekele, G., Nicolson, M., Ravussin, E., Pratley, R. E. Relationship of the white blood cell count to body fat: role of leptin. *Br. J. Haematol.* 1997; 99: 447-451.
143. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. Giamila Fantuzzi and Raffaella Faggioni, *J. Leukoc. Biol* 2000; 68: 437-446.
144. Laharrague P, Larrouy D. High expression of leptin by human bone marrow adipocytes in primary culture. *FASEB J* 1998; 12: 747-753.
145. Lee FYJ, Li Y, Yang EK. Phenotypic abnormalities in macrophages from leptin-deficient obese mice. *Am J Physiol* 1999; 276: 386-394.
146. Iwaniec UT, Heaney RP, Cullen DM, Yee JA. Leptin increases the number of mineralized bone nodules in vitro. *J Bone Miner Res* 1998;13: 2-12.
147. Klein KO, Larmore KA. Effect of obesity on estradiol level, and its relationship to leptin, bone maturation, and bone mineral density in children. *J Clin Endoc Metab* 1998; 83: 3469- 75.
148. Iwaniec UT, Heaney RP, Cullen DM, Yee JA. Leptin increases the number of mineralized bone nodules in vitro. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 2-12.
149. Crandall DL, Hausman GJ, Kral JG. A review of the microcirculation of adipose tissue: anatomic, metabolic and angiogenic perspectives. *Microcirculation* 1997; 4: 211-32.
150. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse ob protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 1995; 269: 546 –9.

151. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269: 543–6.
152. Marcin K. Thyroid hormones in the pathogenesis and treatment of obesity. *Eur J Phar* 2002;440: 85– 98.
153. Widjaja A, Stratton IM, Horn R, Holman RR, Turner R, Brabant G. Plasma leptin, obesity, and plasma insulin in type 2 diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 654-657.
154. Nagasaka S, Ishikawa S, Nakamura T, et al. Association of endogenous insulin secretion and mode of therapy with body fat and serum leptin levels in diabetic subjects. *Metabolism* 1998; 47: 1391-1396.
155. Korbonits M, Trainer PJ, Little JA, et al. Leptin levels do not change acutely with food administration in normal or obese subjects, but are negatively correlated with pituitary±adrenal activity. *Clin Endocrinol* 1997; 46: 751-757.
156. Makoto Ishikawa, Joji Kitayama, Hirokazu Nagawa. Expression pattern of leptin and leptin receptor (OB-R) in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12(34): 5517-5522.
157. Vissuzine C, Sobhani I, Bado A, et al. Leptin secretion and leptin receptor in human stomach. *Gut* 2000; 47(2): 178-183.
158. Gregory J. Morton , Michael W. Schwartz. Leptin and the Central Nervous System Control of Glucose Metabolism, *Physiol Rev* 2011; 91: 389-411.
159. Gülle K , Uyanıkgil Y, Karaöz E. Immunohistochemical demonstration of leptin expression in the rat stomach. *Ege Journal of Medicine* 2009; 48(1):1-6.
160. Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, Carroll MD, Curtin LR, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents and adults,1992-2002. *JAMA* 2004; 291:2847-2850.
161. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348:1625-1638.
162. Reeves GK, Pirie K, Beral V, Green J, Spencer E, Bull D. Cancer incidence and mortality in relation to body mass index in the Million Women Study: cohort study. *BMJ* 2007; 335:1134.

163. Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet* 2008; 371:569-578.
164. Wiseman M. The second World Cancer Research Fund/ American Institute for Cancer Research expert report. Food , nutrition, physical activity and prevention of cancer: a global perspective. *Proc Nutr Soc* 2008; 67:253-256.
165. Rob C.M. van Kruijsdijk, Elsken van der Wall, Frank L.J. Visseren. Obesity and Cancer: The Role of Dysfunctional Adipose Tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2569.
166. Garofalo C, Surmacz E. Leptin and cancer. *J Cell Physiol* 2006; 207:12-22.
167. Housa D, Housava J, Vernerova Z, Haluzik M. Adipocytokines and cancer. *Physiol Res* 2006; 55:233-244.
168. Kelesidis I, Kelesidis T, Mantzoros CS. Adiponectin and cancer: a systematic review. *Br J Cancer* 2006; 94:1221-1225.
169. Howard JM, Pidgeon GP, Reynolds JV. Leptin and gastro-intestinal malignancies. *Obes Rev.* 2010; 11(12):863-874.
170. Stattin P, Soderberg S, Hallmans G et al. Leptin is associated with increased prostate cancer risk: a nested case-referent study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 1341-1345.
171. Stattin P, Lukanova A, Biessy C et al. Obesity and colon cancer: does leptin provide a link? *Int. J. Cancer* 2004; 109: 149-152.
172. Kumor A, Daniel P, Pietruczuk M, Małacka-Panas E. Serum leptin, adiponectin, and resistin concentration in colorectal adenoma and carcinoma (CC) patients. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 275-281.
173. Arpacı F, Yılmaz MI, Özet A et al. Low serum leptin level in colon cancer patients without significant weight loss. *Tumori* 2002; 88: 147-149.
174. Bolukbas FF, Kilic H, Bolukbas C et al. Serum leptin concentration and advanced gastrointestinal cancers: a case controlled study. *BMC Cancer* 2004; 24: 4.
175. Wallace AM, Sattar N, McMillan DC. Effect of weight loss and the inflammatory response on leptin concentrations in gastrointestinal cancer patients. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 2977-2979.
176. Tessitore L, Vizio B, Jenkins O et al. Leptin expression in colorectal and breast cancer patients. *Int J Mol Med* 2000; 5: 421-426.

177. Stattin P, Palmqvist R, Söderberg S et al. Plasma leptin and colorectal cancer risk: a prospective study in Northern Sweden. *Oncol Rep* 2003; 10: 2015-2021.
178. Stattin P, Lukanova A, Biessy C et al. Obesity and colon cancer: does leptin provide a link? *Int J Cancer* 2004; 109: 149-152.
179. Tamakoshi K, Toyoshima H, Wakai K et al. Leptin is associated with an increased female colorectal cancer risk: a nested case-control study in Japan. *Oncology* 2005; 68: 454-461.
180. Stephenson GD, Rose DP. Breast cancer and obesity: an update. *Nutr. Cancer* 2003; 45: 1-16.
181. Simons JP, Schols AM, Campfield LA, Wouters EF, Saris WH. Plasma concentration of total leptin and human lung-cancer-associated cachexia. *Clin Sci (Lond)* 1997, 93:273-277.
182. Wallace AM, Sattar N, McMillan DC. Effect of weight loss and the inflammatory response on leptin concentrations in gastrointestinal cancer patients. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 2977-2979.
183. Liang Zhao, Zhi-Xiang Shen, He-Sheng Luo, Lei Shen. Possible involvement of leptin and leptin receptor in developing gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11(48):7666-7670
184. Hans Zinsser and Takeo Tamiya. An Experimental Analysis Of Bacterial Allergy. *J Exp Med.* 1926; 44(6): 753-776.
185. Le J, Vilcek J. TNF and IL-1: Cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 1987; 56:236.
186. Giraud, 2009 Springer Science + Business media. Cytokines In: Richard Coico, Geoffrey Sunshine (eds) *Immunology: A Short Course* (6th ed) John Wiley & Sons. Copyright. New Jersey 2009, pp.165-183.
187. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun.* 1999; 1(1):3-19.
188. Abbas AK, Lichtman Ah, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology*, 4th ed., 2000; 235-269.
189. Roitt IM, and Delves PJ. *IM, Immunology* 10th ed 2001;177-199
190. Virchow,R. *Diekrankhaften Geschwülste*. Berlin:August Hirschwald.1863.
191. Kundu J.K., Surh Y.J. Inflammation: gearing the journey to cancer. *Mutat.Res* 2008; 659: 15-30.

- 192.** Colotta F., Allavena P., Sica A., Garlanda C., Mantovani A. Cancer related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis* 2009; 30:1073-1081.
- 193.** Karin M. Nuclearfactor- kappaB in cancer development and progression. *Nature* 2006; 441: 431–436.
- 194.** Aggarwal B.B., Gehlot P. Inflammation and cancer: how friendly is the relationship for cancer patients?. *Curr.Opin.Pharmacol.* 2009; 9:351-369.
- 195.** Grivennikov S.I., Karin,M. (). Inflammation and oncogenesis: avicious connection. *Curr. Opin. Genet.Dev.* 2010; 20: 65-71.
- 196.** Calle EE, Thun MJ. Obesity and cancer. *Oncogene.* 2004; 23:6365-6378.
- 197.** Wolk A, Gridley G, Svensson M, McLaughlin JK, Fraumeni JF, Adam HO. A prospective study of obesity and cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control.* 2001;12:13-21.
- 198.** Giovanni Germano, Paola Allavena, Alberto Mantovani. Cytokines as a key component of cancer –related inflammation. *Cytokine* 2008; 43: 374-379.
- 199.** Juan CC, Au LC, Fang VS, et al. Suppressed gene expression of adipocyte resistin in an insulin-resistant rat model probably by elevated free fatty acids. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289:1328-1333.
- 200.** Dr. Rıfat EMRAL. Adiponektin ve Diğer Sitokinler. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2006, 26:409-442.
- 201.** Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1995; 95:2111-2119.
- 202.** Sethi JK, Hotamisligil GS. The role of TNF alpha in adipocyte metabolism. *Semin Cell Dev Biol* 1999; 10:19-29.
- 203.** Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409:307-312.
- 204.** Ruan H, Miles PD, Ladd CM, et al. Profiling gene transcription in vivo reveals adipose tissue as an immediate target of tumor necrosis factor-alpha: Implications for insulin resistance. *Diabetes* 2002; 51:3176-3188.
- 205.** Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzubal FC, Burrell MA. The adipocyte: A model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280:827-847.

- 206.** Montague CT, O’Rahilly S. Causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes* 2000; 49:883-888.
- 207.** Dr.Ahmet ERGÜN.Yağ Dokusu ve Yağ Hücresi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005; 25:412-420.
- 208.** Goldstein BJ. Insulin resistance as the care defect in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2002; 90: 3-10.
- 209.** Prins J B, Neisler CU, Winterford CM, et al. Tumor necrosis factor- α induces apoptosis of human adipose cells. *Diabetes* 1997; 46:1939-1944.
- 210.** Steppan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Tren Endoc&Metab* 2002; 13:18-23.
- 211.** Gülle K, Karagöz E. Leptinler. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2000; 20:112-121.
- 212.** Kırmaz C, Özentürk Ö. Immune responses against malignancies. *Astım Alerji İmmünoloji*.2004; 2(3): 167-174.
- 213.** Pay S. The use of anti-TNF drugs rheumatic disorders. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 2006; 26: 430-440.
- 214.** Mocellin S, Rossi CD, Pilati P, Nitti D. Tumor necrosis factor,cancer and anticancer therapy. *Cytokine Growth Factor Rev*.2005; 16 : 35-53.
- 215.** Aggarwal B, Shishodia S, Sandur K, Pandey K, Sethi G. Inflammation and cancer: how hot is the link?. *Biochem Pharmacol*.2006; 72 :1605-1621.
- 216.** Anderson M, Nakada T, Dewitte M. Tumor necrosis factor- α in the patogenesis and treatment of cancer. *Curr Opin in Pharmacol* 2004; 4: 314-320.
- 217.** Minuzzo S, Maserle L, Indraccolo S, Amadori A. Angiogenesis meets immunology : cytokine gene therapy of cancer. *Molecular Aspect of Medicine*. 2007; 28 :59-86.
- 218.** Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1family. *Annu Rev Immunol* 2009; 27:519-550.
- 219.** Greenfeder SA, Nunes P, Kwee L, Labow M, Chizzonite R, Ju G . Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin 1 receptor complex. *J Biol Chem* 1995; 270: 13757-13765.
- 220.** Huang J, Gao X, Li S, Cao Z. Recruitment of IRAK to the interleukin 1 receptor complex requires interleukin 1 receptor accessory protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:12829-12832.

221. Hofmeister R, Wiegmann K, Korherr C, Bernardo K, Kronke M, Falk W. Activation of acid sphingomyelinase by interleukin-1 (IL-1) requires the IL-1 receptor accessory protein. *J Biol Chem* 1997; 272:27730-27736.
222. Marc Feldmann, Jeremy Saklatvala. Proinflammatory Cytokines. *Cell Immunol* 2004; 291-305.
223. Barak V, Nisman B, Polliack A, Vannier E, Dinarello CA. Correlation of serum level of interleukin-1 family members with disease activity and response to treatment in hairy cell leukemia. *Eur Cytokine Netw* 1998; 9:33-39.
224. Svenson MM, Hansen MB, Heegaard P, Abell K, Bendtzen K. Specific binding of interleukin 1 (IL-1) β and IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) to human serum. High affinity binding of IL-1ra to soluble IL-1 receptor type I. *Cytokine* 1993; 5:427-435.
225. Pruitt JH, Burrell Welborn M, Edwards PD, et al. Increased soluble interleukin-1 type II receptor concentrations in postoperative patients and in patients with sepsis syndrome. *Blood* 1996; 87:3282-3288.
226. William P. Arend, Gaby Palmer, Cem Gabay. IL-1, IL-18, and IL-33 families of Cytokines . *Immunological Reviews* 2008; 223: 20–38.
227. Colotta F, Saccani S, Giri JG, Dower SK, Sims JE, Introna M, Mantovani A. Regulated expression and release of the interleukin 1 decoy receptor in human mononuclear phagocytes. *J Immunol* 1996; 156:2534-2541.
228. Colotta F, Orlando S, Fadlon EJ, Sozzani S, Matteucci C, Mantovani A. Chemoattractants induce rapid release of the interleukin 1 type II decoy receptor in human polymorphonuclear cells. *J Exp Med* 1995;181:2181-2188.
229. Orlando S, Matteucci C, Fadlon EJ, Buurman WA, Bardella MT, Colotta F, Introna M, Mantovani A. TNF α , unlike other pro- and anti-inflammatory cytokines induce rapid release of the IL-1 type II decoy receptor in human myelomonocytic cells. *J Immunol* 1997; 158:3861-3868.
230. Dina M. Elaraj, DavidM. Weinreich, Sheelu Varghese, Markus Puhlmann, StephenM. Hewitt, Nancy M. Carroll, Elizabeth D. Feldman, Ewa M. Turner and H. Richard Alexander. The Role of Interleukin1 in Growth and Metastasis of Human Cancer Xenografts. *Clin Cancer Res* 2006; 12:1088-1096
231. Lewis A.M., Varghese S., Xu H., Alexander H.R. Interleukin- 1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment. *J. Transl. Med.* 2006;4:48.

232. Saijo Y, Tanaka M, Miki M, et al. Proinflammatory cytokine IL-1 promotes tumor growth of Lewis lung carcinoma by induction of angiogenic factors: in vivo analysis of tumor-stromal interaction. *J Immunol* 2002; 169:469-475.
233. Salven P, Hattori K, Heissig B, Rafii S. Interleukin-1 α promotes angiogenesis in vivo via VEGFR-2 pathway by inducing inflammatory cell VEGF synthesis and secretion. *FASEB J* 2002;16:1471-1473.
234. Elena Voronov, Dror S. Shouval, Yakov Krelin, et al. IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *PNAS* 2003; 100: 2645-2650.
235. Imaizumi T, Itaya H, Nasu S, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in human umbilical vein endothelial cells stimulated with interleukin-1 α an autocrine regulation of angiogenesis and inflammatory reactions. *Thromb Haemost* 2000; 83:949-955.
236. Rajavashisth TB, Liao JK, Galis ZS, et al. Inflammatory cytokines and oxidized low density lipoproteins increase endothelial cell expression of membrane type 1 matrix metalloproteinase. *J Biol Chem* 1999; 274:11924-11929.
237. Shchors K, Shchors E, Rostker F, Lawlor E.R, Brown-Swigart L, Evan G.I. The Myc-dependent angiogenic switch in tumors is mediated by interleukin 1 β . *GenesDev.* 2006; 20: 2527-2538.
238. Mengshol JA, Vincenti MP, Brinckerhoff CE. IL-1 induces collagenase-3 (MMP-13) promoter activity in stably transfected chondrocytic cells: requirement for Runx-2 and activation by p38 MAPK and JNK pathways. *Nucleic Acids Res* 2001; 29:4361-4372.
239. Rao VH, Singh RK, Delimont DC, et al. Interleukin-1 α up-regulates MMP-9 expression in stromal cells of human giant cell tumor of bone. *J Interferon Cytokine Res* 1999; 19:1207-1217.
240. Yoo HG, Shin BA, Park JS, et al. IL-1 α induces MMP-9 via reactive oxygen species and NF- κ B in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 298:251-256.
241. Esteve PO, Chicoine E, Robledo O, et al. Protein kinase C- ζ regulates transcription of the matrix metalloproteinase-9 gene induced by IL-1 and TNF- α in glioma cells via NF- κ B. *J Biol Chem* 2002; 277:35150- 35155.
242. Lebovic DI, Bentzien F, Chao VA, Garrett EN, Meng YG, Taylor RN. Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1 α . *Mol Hum Reprod* 2000; 6:269-275.

243. Apte R.N, Krelin Y, Song X, et al. Effects of micro environment and malignant cell derived interleukin-1 in carcinogenesis, tumour invasiveness and tumour-host interactions. *Eur J Cancer* 2006; 42,:751-759.
244. Noach LA, Bosma NB, Jansen J, Hoek FJ, van Deventer SJ, Tytgat GN. Mucosal tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8 production in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol.* 1994; 29: 425-429.
245. Jung H. C, Kim J. M, Song I. S, Kim C. Y. *Helicobacter pylori* induces an array of proinflammatory cytokines in human gastric epithelial cells: quantification of mRNA for interleukin-8, -1 alpha/beta, granulocyte-macrophage colony stimulating factor, monocyte chemoattractant protein-1 and tumour necrosis factor-alpha. *J. Gastroenterol. Hepatol* 1997; 12: 473-480.
246. Gabriele Multhoff, Michael Molls, Jürgen Radons. Chronic inflammation in cancer development. *Front Immunol.* 2011; 2:98.
247. El-Omar, Emad M, Carrington Mary, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000; 404:398-402.
248. Sönmez K, Karabulut R, Türkyilmaz Z, et al. Association of tumor necrosis factor, interleukin-6 and cyclooxygenase pathway with lipopolysaccharide-induced intussusception. *Eur J Pediatr Surg.* 2008; 18(2):103-106.
249. Baskin DG, Breininger JF, Schwartz MW. Leptin receptor mRNA identifies a subpopulation of neuropeptide Y neurons activated by fasting in rat hypothalamus. *Diabetes* 1999; 48:823-833.
250. Hirano T, Akira S, Taga T. Biological and clinical aspects of interleukin-6. *Immunol Today* 1990;11:443-449.
251. Marta Łukaszewicz, Barbara Mroczko, Maciej Szmitkowski. Clinical significance of interleukin-6 (IL-6) as a prognostic factor of cancer disease. *Pol Arch Med Wewn.* 2007; 117 (5-6): 247-251.
252. B. Klein, X.G. Zhang, M. Jourdan, J, et al. Paracrine rather than autocrine regulation of myeloma-cell growth and differentiation by interleukin-6. *Blood* 1989; 73:517-526.
253. Lattanzio, C. Libert, M. Aquilina, et al. Defective development of pristane-oil-induced plasmacytomas in interleukin-6-deficient BALB/c mice. *Am J Pathol,* 1997; 151:689-696.

254. Matsuo K, Oka M, Murase K, ET AL. Expression of interleukin 6 and its receptor in human gastric and colorectal cancers. *J Int Med Res* 2003; 31: 69-75
255. Howlett M, Judd LM, Jenkins B, et al. Differential regulation of gastric tumor growth by cytokines that signal exclusively through the coreceptor gp130. *Gastroenterology* 2005; 129: 1005-1018.
256. Tebbutt NC, Giraud AS, Inglese M, et al. Reciprocal regulation of gastrointestinal homeostasis by SHP2 and STAT-mediated trefoil gene activation in gp130 mutant mice. *Nat Med* 2002; 8: 1089-1097.
257. Harris PR, Smythies LE, Smith PD, Dubois A. Inflammatory cytokine mRNA expression during early and persistent *Helicobacter pylori* infection in nonhuman primates. *J Infect Dis* 2000; 181: 783-786.
258. Yamaoka Y, Kodama T, Kita M, Imanishi J, Kashima K, Graham DY. Relation between cytokines and *Helicobacter pylori* in gastric cancer. *Helicobacter* 2001; 6: 116-124.
259. Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Imanishi J. *Helicobacter pylori* cagA gene and expression of cytokine messenger RNA in gastric mucosa. *Gastroenterology* 1996; 110: 1744-1752.
260. Leu CM, Wong FH, Chang C, Huang SF, Hu CP. Interleukin-6 acts as an antiapoptotic factor in human esophageal carcinoma cells through the activation of both STAT3 and mitogen-activated protein kinase pathways. *Oncogene* 2003; 22:7809-7818.
261. Watson JM, Sensintaffar JL, Berek JS, Martinez-Maza O. Constitutive production of IL-6 by ovarian cancer cell lines and by primary ovarian tumor cultures. *Cancer Res* 1990;50:6959-6965.
262. Bataille R, Jourdan M, Zhang XG, Klein B. Serum levels of interleukin 6, a potent myeloma growth factor, as a reflection of disease severity in plasma cell dyscrasias. *J Clin Invest* 1989;84:2008-2011.
263. Tsukamoto T, Kumamoto Y, Miyao N, Masumori N, Takahashi A, Yanase M. Interleukin-6 in renal cell carcinoma. *J Urol* 1992; 148:1778-1782.
264. Seguchi T, Yokokawa K, Sugao H, Nakano E, Sonoda T, Okuyama A. Interleukin-6 activity in urine and serum in patients with bladder carcinoma. *J Urol* 1992; 148:791-794.

265. Gallo O, Gori AM, Attanasio M, Martini F, Paola G, Storch OF, et al. Acute-phase proteins and interleukin-6 serum level in head and neck cancer. *Arch Otolaryngol* 1992; 118:1336-1337.
266. Berek JS, Chung C, Kaldi K, Watson JM, Knox RM, Martínez-Maza O. Serum interleukin-6 levels correlate with disease status in patients with epithelial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164:1038-1043.
267. Goydos JS, Brumfi eld AM, Frezza E, Booth A, Lotze MT, Carty SE. Marked elevation of serum interleukin-6 in patients with cholangiocarcinoma. Validation of utility as a clinical marker. *Ann Surg* 1998; 227:398-404.
268. Schneider MR, Hoeflich A, Fischer JR, Wolf E, Sordat B, Lahm H. Interleukin-6 stimulates clonogenic growth of primary and metastatic human colon carcinoma cells. *Cancer Lett* 2000; 151:31-38.
269. Hsu CP, Chung YC. Influence of interleukin-6 on the invasiveness of human colorectal carcinoma. *Anticancer Res* 2006;26:4607-4614.
270. Horai R, Saijo S, Tanioka H, Nakae S, Sudo K, Okahara A, et al. Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in interleukin1 receptor antagonist-deficient mice. *J Exp Med* 2000;191:313-20.
271. Do-Kyong Kim, Sung Yong Oh, Hyuk-Chan Kwon, et al. Clinical significances of preoperative serum interleukin-6 and C-reactive protein level in operable gastric cancer. *BMC Cancer* 2009;9:155.
272. Masahide Ikeguchi, Tomoko Hatada, Manabu Yamamoto, et al. Serum interleukin-6 and -10 levels in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer* 2009;12: 95-100
273. Knüpfer H, Preiss R. Serum interleukin-6 levels in colorectal cancer patients--a summary of published results. *Int J Colorectal Dis.* 2010; 25(2):135-1340.
274. Bertagnolli MM, Eagle CJ, Zauber AG, Redston M, Solomon SD, Kim K. Celecoxib for the prevention of sporadic colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2006;355:873-884.
275. Weber DM, Chen C, Niesvizky R, Wang M, Belch A, Stadtmauer EA, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed multiple myeloma in North America. *N Engl J Med* 2007;357:2133-2142.
276. Feldman M. Devolepment of anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:364-371.

277. Elizabeth R Burton and Steven K Libutti. Targeting TNF- α for cancer therapy. *J Biol* 2009; 8:85.
278. Chen B, Shanshan C, Zhang Y, Wang X, Liu J, Hui X. Wan Y, Du W, Wang L, Wu K, Fan D: A novel peptide (GX1) homing to gastric cancer vasculature inhibits angiogenesis and cooperates with TNF alpha in anti-tumor therapy. *BMC Cell Biol* 2009; 10:63.
279. Chirivi RG, Garofalo A, Padura IM, Mantovani A, Giavazzi R. Interleukin 1 receptor antagonist inhibits the augmentation of metastasis induced by interleukin1 or lipopolysaccharide in a human melanoma/nude mouse system. *Cancer Res* 1993; 53:5051-5054.
280. Dimitriu C, Martignoni ME, Bachmann J, et al. Clinical impact of cachexia on survival and outcome of cancer patients. *Rom J Intern Med*.2005; 43:173-185.
281. Kovacs E. Multiple myeloma and B cell lymphoma. Investigation of IL-6, IL-6 receptor antagonist (IL-6RA), and GP130 antagonist (GP130A) using various parameters in an in vitro model. *Scientific World Journal*.2006; 6: 888-898.
282. Stewart J Levine. Mechanisms of soluble cytokine receptor generation. *J Immunol* 2004; 173:5343-5348.
283. Horiuchi, S., Y. Koyanagi, Y. Zhou, et al. Soluble interleukin-6 receptors released from T cell or granulocyte/macrophage cell lines and human peripheral blood mononuclear cells are generated through an alternative splicing mechanism. *Eur J Immunol*. 1994; 24:1945.
284. Mullberg J, H Schooltink, T Stoyan, et al. The soluble interleukin-6 receptor is generated by shedding. *Eur. J. Immunol*. 1993; 23:473.
285. Peters, M., S. Jacobs, M. Ehlers, et al. The function of the soluble interleukin 6 (IL-6) receptor in vivo: sensitization of human soluble IL-6 receptor transgenic mice towards IL-6 and prolongation of the plasma half-life of IL-6. *J. Exp. Med*. 1996; 183:1399.
286. Alberto Mantovani, Massimo Locati, Annunziata Vecchi, Silvano Sozzani and Paola Allavena. Decoy receptors: a strategy to regulate inflammatory cytokines and chemokines. *TRENDS in Immunology*, 2001; 22:6.
287. F M H van Dielen, C van't Veer, A M Schols, P B Soeters, W A Buurman, J W M Greve Increased leptin concentrations correlate with increased concentrations of inflammatory markers in morbidly obese individuals, *International Journal of Obesity* 2001; 1759-1766.

288. Colotta F, Re F, Muzio M, Bertini R, Polentarutti N, Sironi M, Giri JG, Dower SK, Sims JE, Mantovani A. Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science* 1993;261: 472-475.
289. Orlando S, M. Sironi, G. Bianchi, et al. Role of metalloproteases in the release of the IL-1 type II decoy receptor. *J. Biol. Chem.* 1997; 272:31764.
290. Giri J. G, J. Wells, S. K. Dower, et al. Elevated levels of shed type II IL-1 receptor in sepsis: potential role for type II receptor in regulation of IL-1 responses. *J. Immunol* 1994; 153:5802.
291. Smith D. E, R Hanna, F. Della, et al. The soluble form of IL-1 receptor accessory protein enhances the ability of soluble type II IL-1 receptor to inhibit IL-1 action. *Immunity* 2003; 18:87.
292. Symons J. A, P. R. Young, G. W. Duff. Soluble type II interleukin 1 (IL-1) receptor binds and blocks processing of IL-1 β precursor and loses affinity for IL-1 receptor antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92:1714.
293. Huang L, Li C Leptin: a multifunctional hormone. *Cell Res* 2000; 10:81-92.
294. Guoqing Yang, Hongfei Ge, Anne Boucher, Xinxin Yu, Cai Li. Modulation of Direct Leptin Signaling by Soluble Leptin Receptor. *Molecular Endocrinology* 2004; 18(6):1354-1362.
295. Tutino V, Notarnicola M, Guerra V, Lorusso D, Caruso MG. Increased soluble leptin receptor levels are associated with advanced tumor stage in colorectal cancer patients. *Anticancer Res.* 2011;31(10):3381-3383.
296. V Wiwanitkit. Interaction between leptin and leptin receptor in gastric carcinoma: gene ontology analysis. *Rev Esp Enferm Dig.* 2007; 99(4):201-205.
297. Lowry et al., *J. Biol. Chem.* 193:265-275
298. Pellicano R, Mladenova I, Martinotti R, Fagoonee S, Rizzetto M. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: An interdisciplinary point of view. *Minerva Med* 2006; 97: 31-8.
299. Kim EY, Chin HM, Park SM, et al. Susceptibility of gastric cancer according to leptin and leptin receptor gene polymorphisms in Korea. *J Korean Surg Soc.* 2012 July; 83(1): 7-13.
300. Cammisotto PG, Bendayan M. Leptin secretion by white adipose tissue and gastric mucosa. *Histol Histopathol.* 2007; 22(2):199-210.
301. Expression of leptin and leptin receptor isoforms in the human stomach. Mix H, Widjaja A, Jandl O, et al. *Gut.* 2000 Oct;47(4):481-6.

- 302.** Yoshito Nishi, Hajime Isomoto, Shigeo Uotani, et al. Enhanced production of leptin in gastric fundic mucosa with *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2005; 11(5):695-699.
- 303.** Wallace AM, Kelly A, Sattar N, McArdle CS, McMillan DC. Circulating concentrations of "free" leptin in relation to fat mass and appetite in gastrointestinal cancer patients. *Nutr Cancer*. 2002; 44:157-160.
- 304.** Dülger H, Alici S, Sekeroğlu MR, et al. Serum levels of leptin and proinflammatory cytokines in patients with gastrointestinal cancer. *Int J Clin Pract*. 2004 Jun;58(6):545-549.
- 305.** Yarandi SS, Hebbar G, Sauer CG, Cole CR, Ziegler TR Diverse roles of leptin in the gastrointestinal tract: modulation of motility, absorption, growth, and inflammation. *Nutrition*. 2011; 27(3):269-275.
- 306.** Ogawa T, Hirose H, Yamamoto Y, et al. Relationships between serum soluble leptin receptor level and serum leptin and adiponectin levels, insulin resistance index, lipid profile, and leptin receptor gene polymorphisms in the Japanese population. *Metabolism*. 2004; 53(7):879-885.
- 307.** Alexander Koch, Ralf Weiskirchen, Henning W. Zimmermann, Edouard Sanson, Christian Trautwein, Frank Tacke. Clinical Study Relevance of Serum Leptin and Leptin-Receptor Concentrations in Critically Ill Patients. *Mediators of Inflammation*, 2010; 2010: 473540.
- 308.** Nakajima TE, Yamada Y, Hamano T, et al. Adipocytokine levels in gastric cancer patients: resistin and visfatin as biomarkers of gastric cancer. *J Gastroenterol*. 2009;44(7):685-690.
- 309.** Zhu B, Liu S, Liu J, Wan F. Effect of serum leptin on nutritional status of patients with cancer. *Japanese Journal of Surgical Metabolism and Nutrition*. 2002;31(2):100-102.
- 310.** Krasimira Aleksandrova et al Leptin and Soluble Leptin Receptor in Risk of Colorectal Cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Cohort. *Cancer Res*. 2012; 72(20):5328-5337.
- 311.** Zhao X, Huang K, Zhu Z, Chen S, Hu R. Correlation between expression of leptin and clinicopathological features and prognosis in patients with gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22(8):1317-1321.
- 312.** Hong SJ, Kwon KW, Kim SG, Ko BM, Ryu CB, Kim YS, Moon JH, Cho JY, Lee JS, Lee MS, Shim CS, Kim BS. Variation in expression of gastric leptin

according to differentiation and growth pattern in gastric adenocarcinoma. *Cytokine* 2006; 33:66-71.

- 313.** Szymon Skoczen, Przemyslaw J Tomasik , Mirosław Bik-Multanowski, et al. Plasma levels of leptin and soluble leptin receptor and polymorphisms of leptin gene -18G > A and leptin receptor genes K109R and Q223R, in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Exp Clin Cancer Res.* 2011;1:30-64.
- 314.** Sepilian VP, Crochet JR, Nagamani M. Serum soluble leptin receptor levels and free leptin index in women with polycystic ovary syndrome: relationship to insulin resistance and androgens. *Fertil Steril.* 2006; 85(5):1441-7.
- 315.** Geng Y, Wang J, Wang R, et al. Leptin and HER-2 are associated with gastric cancer progression and prognosis of patients. *Biomed Pharmacother.* 2012; 66(6):419-424.
- 316.** Expression of HER-2 and leptin in gastric cancer and their clinical significance Geng YT, Qiu JR, Wang R, Su YT, Shu YQ, Yin YM.).
- 317.** Qin Y, Xi Bao, Yu Fen, Zi Mian, Yi Xue, Za Zhi. Quercetin affects leptin and its receptor in human gastric cancer MGC-803 cells and JAK-STAT pathway. 2012; 28(1):12-6.
- 318.** Aparicio T, Kermorgant S, Darmoul D, et al. Leptin and Ob-Rb receptor isoform in the human digestive tract during fetal development. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(11):6177-6184.
- 319.** Stachowicz M, Mazurek U, Nowakowska-Zajdel E, Niedworok E, Fatyga E, Muc-Wierzgón M. Leptin and its receptors in obese patients with colorectal cancer. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2010; 24(3):287-295.
- 320.** Michael Schaab, Henriette Kausch, Juergen Klammt. Novel Regulatory Mechanisms for Generation of the Soluble Leptin Receptor: Implications for Leptin Action. *PLoS ONE* 2012; 7(4): 34787.
- 321.** Zhang Yu-shu, Yuan Jie, Zhang Zhen-yu, Kong Chao-mei, Du Tong-xin, Wang Zi-zheng. Relationship between serum leptin concentration and malnutrition in gastric cancer patients. *Journal of Southeast University, Medical science edition*:01 -2007.
- 322.** Mantzoros CS, Moschos SJ. Leptin: in search of role(s) in human physiology and pathophysiology. *Clin. Endocrinol.* 1998; 49:551-467.
- 323.** Konturek PC, Brzozowski T, Sulekova Z et al. Role of leptin in ulcer healing. *Eur. J. Pharmacol.* 2001; 414: 87-97.

324. Azuma T, Suto H, Ito Y et al. Gastric leptin and Helicobacter pylori infection. Gut 2001; 49: 324-329
325. Geng YT, Qiu JR, Wang R, et al. Expression of HER-2 and leptin in gastric cancer and their clinical significance. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. 201; 33(10):764-769.
326. Wu N, Wang Y, Wang S, Chen Y, Yan J. Recombinant human leptin induces growth inhibition and apoptosis in human gastric cancer MGC-803 cells. Clin Exp Med. 2012.
327. Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. J Clin Invest 2007; 117: 1175 -1183.
328. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. Nature 2002; 420: 860-867 .
329. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. Cell 2010; 140 : 883-899.
330. Greten FR, Karin M. NF-kB: Linking inflammation and immunity to cancer development and progression. Nat Rev Immunol 2005; 5 :749-759.
331. Grivennikov SI, Karin M. Inflammation and oncogenesis: a vicious connection. Curr Opin Genet Dev 2010; 20: 65-71.
332. Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. Nat Rev Cancer 2009 ; 9: 798-809.
333. Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. Nature 2006; 441 : 431-436.
334. Balkwill F. Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? Cytokine Growth Factor Rev 2002; 13: 135-141.
335. Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer. Nat Rev Cancer 2009 ; 9 : 361-371.
336. Kim S, Keku TO, Martin C, et al. Circulating levels of inflammatory cytokines and risk of colorectal adenomas. Cancer Res 2008; 68 :323-328.
337. Grivennikov S, Karin M. Autocrine IL-6 signaling: a key event in tumorigenesis? Cancer Cell 2008; 13: 7-9.
338. Huang SP, Wu MS, Wang HP, Yang CS, Kuo ML, Lin JT. Correlation between serum levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor in gastric carcinoma. J Gastroenterol Hepatol 2002;17:1165-1169.

339. Lin MT, Lin BR, Chang CC, Chu CY, Su HJ, Chen ST, Jeng YM, Kuo ML. IL-6 induces AGS gastric cancer cell invasion via activation of the c-Src/RhoA/ROCK signaling pathway. *Int J Cancer* 2007; 120:2600-2608.
340. Ito R, Yasui W, Kuniyasu H, Yokozaki H, Tahara E Expression of interleukin-6 and its effect on the cell growth of gastric carcinoma cell lines. *Jpn J Cancer Res* 1987; 88:953-958.
341. Lee SA, Choi SR, Jang JS, Lee JH, Roh MH, Kim SO, Kim MC, Kim SJ, Jeong JS Expression of VEGF, EGFR, and IL-6 in gastric adenomas and adenocarcinomas by endoscopic submucosal dissection. *Dig Dis Sci* 2010; 55:1955-1963.
342. Lukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Gryko M, Kedra B, Szmitkowski M. Comparison between clinical significance of serum proinflammatory proteins (IL-6 and CRP) and classic tumor markers (CEA and CA 19-9) in gastric cancer. *Clin Exp Med*. 2011;11(2):89-96.
343. Kang JM, Kim N, Lee DH, et al. The effects of genetic polymorphisms of IL-6, IL-8, and IL-10 on *Helicobacter pylori*-induced gastroduodenal diseases in Korea. *J Clin Gastroenterol*. 2009; 43(5):420-428.
344. Kato I, van Doorn LJ, Canzian F, et al. Host-bacterial interaction in the development of gastric precancerous lesions in a high risk population for gastric cancer in Venezuela. 2006 Oct 1;119(7):1666-71.
345. Yamashita S, Ogawa M, Abe T, et al. Group II phospholipase A2 in invasive gastric cancer cell line is induced by interleukin 6. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994; 198(3):878-884.
346. Kemik O, Kemik AS, Begenik H, et al. The relationship among acute-phase response proteins, cytokines, and hormones in various gastrointestinal cancer types patients with cachectic. *Hum Exp Toxicol*. 2012; 31(2):117-125.
347. Hyuk-Chan Kwon, Sung-Hyun Kim, Sung Yong O. Clinicopathologic significance of expression of nuclear factor- κ B RelA and its target gene products in gastric cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2012; 18(34):4744-50.
348. Wong HL, Rabkin CS, Shu XO, et al. Systemic cytokine levels and subsequent risk of gastric cancer in Chinese Women. *Cancer Sci*. 2011 Oct;102(10):1911-1915.

349. Ashizawa T, Okada R, Suzuki Y, et al. Clinical significance of interleukin-6 (IL-6) in the spread of gastric cancer: role of IL-6 as a prognostic factor. *Gastric Cancer*. 2005; 8(2):124-131.
350. Kabir S, Daar GA. Serum levels of interleukin-1, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha in patients with gastric carcinoma. *Cancer Lett*. 1995 Aug 16;95(1-2):207-12.
351. Yin Y, Si X, Gao Y, Gao L, Wang J. The nuclear factor- κ B correlates with increased expression of interleukin-6 and promotes progression of gastric carcinoma. *Oncol Rep*. 2013 Jan; 29(1):34-38.
352. Yin YW, Sun QQ, Hu AM, et al. Associations between interleukin-6 gene -174 C/G and -572 C/G polymorphisms and the risk of gastric cancer: a meta-analysis. *J Surg Oncol*. 2012 Dec;106(8):987-993.
353. Wang J, He W, Liu J, et al. Association of IL-6 polymorphisms with gastric cancer risk: evidences from a meta-analysis. *Cytokine*. 2012; 59(1):176-183.
354. Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Szmitkowski M. The role of interleukin-6 and C-reactive protein in gastric cancer. *Pol Merkur Lekarski*. 2010; 29(174):382-386.
355. Unal B, Kocer B, Altun B, et al. Serum neopterin as a prognostic indicator in patients with gastric carcinoma. *J Invest Surg*. 2009; 22(6):419-425.
356. Lee SA, Choi SR, Jang JS, et al. Expression of VEGF, EGFR, and IL-6 in gastric adenomas and adenocarcinomas by endoscopic submucosal dissection. *Dig Dis Sci*. 2010; 55(7):1955-63.
357. Jang JS, Choi SR, Han SY, et al. Predictive significance of serum IL-6, VEGF, and CRP in gastric adenoma and mucosal carcinoma before endoscopic submucosal dissection. *Korean J Gastroenterol*. 2009;54(2):99-107.
358. ThongNgamD, TangkijvanichP, LerknimitrR, MahachaiV, TheamboonlersA, PoovorawY. Diagnostic role of serum interleukin-18 in gastric cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2006 Jul 28;12(28):4473-4477.
359. Ilhan N, Ilhan N, Ilhan Y, Akbulut H, Kucuksu M. C-reactive protein, procalcitonin, interleukin-6, vascular endothelial growth factor and oxidative metabolites in diagnosis of infection and staging in patients with gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2004;10(8):1115-1120.
360. Kim HK, Song KS, Park YS, et al. Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer:

- possible role of a metastasis predictor. Kim HK et al. *Eur J Cancer*. 2003;39(2):184-191.
- 361.** De Vita F, Romano C, Orditura M, et al. Interleukin-6 serum level correlates with survival in advanced gastrointestinal cancer patients but is not an independent prognostic indicator. *J Interferon Cytokine Res*. 2001;21(1):45-52.
 - 362.** Ito R, Yasui W, Kuniyasu H, Yokozaki H, Tahara E. Expression of interleukin-6 and its effect on the cell growth of gastric carcinoma cell lines. *Jpn J Cancer Res*. 1997 Oct;88(10):953-958.
 - 363.** Wu CW, Wang SR, Chao MF, Wu TC, Lui WY, P'eng FK, Chi CW. Serum interleukin-6 levels reflect disease status of gastric cancer. *Am J Gastroenterol*. 1996 Jul;91(7):1417-22.
 - 364.** Zhao C, Lu X, Bu X, Zhang N, Wang W. Involvement of tumor necrosis factor-alpha in the upregulation of CXCR4 expression in gastric cancer induced by *Helicobacter pylori*. *BMC Cancer*. 2010 Aug 11;10:419.
 - 365.** Marta Correia, Marília Cravo, Pedro Marques-Vidal, et al. Serum concentrations of TNF-alpha as a surrogate marker for malnutrition and worse quality of life in patients with gastric cancer. *Clinical Nutr* 2007; 6:728-735.
 - 366.** Lu PH, Tang Y, Li C, Shen W, Ji L, Guo YJ, Tao GQ. Meta-analysis of association of tumor necrosis factor alpha-308 gene promoter polymorphism with gastric cancer. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 2010;44(3):209-214.
 - 367.** Gorouhi F, Islami F, Bahrami H, Kamangar F. Tumour-necrosis factor-A polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2008; 98(8):1443-1451.
 - 368.** Murphy G, Thornton J, McManus R, et al. Association of gastric disease with polymorphisms in the inflammatory-related genes IL-1B, IL-1RN, IL-10, TNF and TLR4. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Jun;21(6):630-5.
 - 369.** Macrì A, Versaci A, Loddo S, et al. Biomarkers. 2006 Mar-Apr;11(2):184-93. Serum levels of interleukin 1beta, interleukin 8 and tumour necrosis factor alpha as markers of gastric cancer.
 - 370.** Suganuma M, Kuzuhara T, Yamaguchi K, Fujiki H. Carcinogenic role of tumor necrosis factor-alpha inducing protein of *Helicobacter pylori* in human stomach. *J Biochem Mol Biol*. 2006;39(1):1-8.

- 371.** Lu W, Pan K, Zhang L, Lin D, Miao X, You W. Genetic polymorphisms of interleukin (IL)-1B, IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor {alpha} and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Carcinogenesis*. 2005;26(3):631-6.
- 372.** José Carlos Machado, Céu Figueiredo, Paulo Canedo, et al. A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma. *Gastroenterology*. 2003;125(2):364-71.
- 373.** Forones NM, Mandowsky SV, Lourenço LG. Serum levels of interleukin-2 and tumor necrosis factor-alpha correlate to tumor progression in gastric cancer. *Hepatogastroenterology*. 2001; 48(40):1199-201.
- 374.** Wu CW, Chi CW, Hsieh MC, Chao MF, Lui WY, P'Eng FK. Serum tumor necrosis factor in patients with gastric cancer. *Anticancer Res*. 1998;18(3A):1597-1599.
- 375.** Izutani R, Katoh M, Asano S, Ohyanagi H, Hirose K. Enhanced expression of manganese superoxide dismutase mRNA and increased TNF-alpha mRNA expression by gastric mucosa in gastric cancer. *World J Surg*. 1996;20(2):228-33.
- 376.** Kabir S, Daar GA. Serum levels of interleukin-1, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha in patients with gastric carcinoma. *Cancer Lett*. 1995; 95(1-2):207-212.
- 377.** Jablonska E, Piotrowski L, Kiluk M, Jablonski J, Grabowska Z, Markiewicz W. Effect of IL-15 on the secretion of IL-1beta, IL-1Ra and sIL-1RII by PMN from cancer patients. *Cytokine*. 2001;16(5):173-177.
- 378.** Jeffrey H. Pruitt, M. Burrell Welborn, Paul D. Edwards, et al. Increased Soluble Interleukin-1 Type II Receptor Concentrations in Postoperative Patients and in Patients With Sepsis Syndrome. *Blood* 1996; 87:3282-3288.

**TC.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA**

Dr.İşıl ÇAKIR'a ait 'MİDE KANSERLİ OLGULARDA KAN VE MİDE LEPTİN SEVİYESİ İLE MİDE LEPTİN RESEPTÖR, KAN SOLUBL LEPTİN RESEPTÖR, TNF- α , IL-6 VE SOLUBL IL-1 DECOY (TUZAK) RESEPTÖR SEVİYELERİNDEKİ DEĞİŞİM' adlı çalışma, jürimiz tarafından Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih :17.05.2013

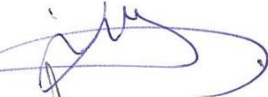
Başkan Prof.Dr.SABAHATTİN MUHTAROĞLU

İmza



Üye Prof.Dr.ESER KILIÇ

İmza



Üye Prof.Dr .GÜLDEN BAŞKOL

İmza



Üye Prof.Dr.MEHMET YÜCESOY

İmza



Üye Prof.Dr.MUSTAFA KULA

İmza

