



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MİDE KANSERİNİN PATOGENEZİNDE HER2
GENİNİN ROLÜ VE PROGNOZA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Abdi İbrahim Halil SÖNMEZ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Alper SEVİNÇ**

Haziran-2013

**T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MİDE KANSERİNİN PATOGENEZİNDE HER2
GENİNİN ROLÜ VE PROGNOZA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Abdi İbrahim Halil SÖNMEZ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Alper SEVİNÇ**

Haziran-2013

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

MİDE KANSERİNİN PATOGENEZİNDE HER2 GENİNİN ROLÜ VE PROGNOZA ETKİSİ

Dr. Abdi İbrahim Halil Sönmez

18.06.2013

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

.....
Prof.Dr.Abdurrahman KADAYIFÇI
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık ” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum

.....
Prof. Dr. Ahmet Mesut ONAT
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönüyle “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

.....
Prof. Dr. Alper SEVİNÇ
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ

1. Prof. Dr. Ahmet Mesut ONAT
2. Prof. Dr. Alper SEVİNÇ
3. Prof. Dr. Mehmet YILMAZ
4. Prof. Dr. Mustafa ARAZ
5. Doç. Dr. Musa AYDINLI

I. ÖNSÖZ

Eğitimim süresince desteğini esirgemeyen hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Alper SEVİNÇ'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan Prof. Dr. Celaletdin CAMCI'ya teşekkür ederim.

İhtisas sürem boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tüm hocalarıma özellikle Prof. Dr. Celalettin USALAN ve Prof. Dr. Mehmet YILMAZ'a ve birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarımdan şu an uzman olan Dr. Orhan ZENGİN ve Dr. Ahmet Ziya ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ablam ve kardeşime, beni bugünlere getiren evlatları olmaktan gurur duyduğum annem ve babama teşekkür eder, sevgilerimi sunarım.

Dr. Abdi İbrahim Halil SÖNMEZ

Gaziantep, 2013

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ	I
II. İÇİNDEKİLER	II
III. ÖZET	IV
IV. ABSTRACT	V
V. KISALTMALAR	VI
VI. TABLO LİSTESİ	VII
VII. ŞEKİL LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mide Tümörlerinin Genel Özellikleri	3
2.2. Mide Kanseri	3
2.2.1. Mide Kanserinde Epidemiyoloji	3
2.2.2. Mide Kanserinde Etyopatogenez	5
2.2.3. Mide Kanseri ve Genetik faktörler	9
2.2.3.1. Kanser ve Genetik	9
2.2.3.2. Kanser ve Her2/neu (c-Erb B2) geni	11
2.2.3.3. Mide Kanseri ve Her2	15
2.2.4. Mide Kanserinde Klinik Bulgular	16
2.2.5. Mide Kanserinde Tanı	17
2.2.6. Mide Kanserinde Histopatoloji	18
2.2.7. Mide Kanserinde Evreleme	21
2.2.8. Mide Kanserinde Tedavi	25
2.2.8.1. Cerrahi Tedavi	25
2.2.8.2. Kemoterapi	27
2.2.8.3. Radyoterapi	28
2.2.9. Mide Kanserinde Prognostik Faktörler	28

3.GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Örneklerin Toplanması	30
3.2. Klinik Tanı ve Veri Toplanması İçin Yapılan İşlemler	30
3.3. İmmunohistokimyasal Değerlendirme	31
3.4. RNA İzolasyonu	32
3.5. cDNA Sentezi	32
3.6. Real Time - PCR	33
3.7. İstatistiksel Analiz	35
4.BULGULAR	36
5.TARTIŞMA	44
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	52
7.KAYNAKLAR	54
8.EKLER	69

III. ÖZET

MİDE KANSERİNİN PATOGENEZİNDE HER2 GENİNİN ROLÜ VE PROGNOZA ETKİSİ

Dr. Abdi İbrahim Halil SÖNMEZ

Uzmanlık Tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Alper SEVİNÇ

Haziran 2013, 68 sayfa

GİRİŞ: Mide kanseri sık görülen gastrointestinal sistem tümörlerinden biridir. nsidansı etnik grup, coğrafi koşullar, beslenme alışkanlıkları, ekonomik durum, yaşam tarzı ve Helicobacter pylori prevelansı ile farklılık göstermektedir. Mide kanserinin patogenezinde genetik faktörlerin rolü büyüktür ve Her2/neu (c-erb B2) geni de bunlardan biridir.

AMAÇ: Çalışmamızın amacı mide kanserindeki Her2/neu geninin Real-Time PCR ile amplifikasyon düzeyini aynı dokudan alınmış ve IHC ile çalışılan Her2 protein aşırı ekspresyonu ile karşılaştırmaktır. Eğer pozitiflik saptanırsa yaş, cinsiyet, evre, tümör lokalizasyonu ve histolojik tip gibi bilinen diğer prognostik faktörlerle ilişkisini saptamak, prognostik faktör ve terapötik hedef olarak kullanılabilirliğini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Bu çalışma, yeni tanı 50 mide kanseri hastası üzerinde prospektif olarak yapılmıştır. 50 hastanın tümöral ve normal taze mide dokusundan Real-Time PCR yöntemiyle mRNA düzeyinde Her2 gen ekspresyon düzeyi tespit edilip aynı hastaların IHC değerlendirme için parafin bloklarından Her2 protein düzeyi çalışılmıştır ve bu sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

BULGULAR: IHC ile yapılan değerlendirmede 5 hastamızda (% 10) Her2 aşırı ekspresyonu ve Real-Time PCR ile 5 hastamızda (% 10) amplifikasyon saptandı. İki yöntemin korelasyonunda ise oran % 0 idi ve istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0.05$). Prognostik faktörlerle tümör dokularındaki gen ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$).

SONUÇ: Her2 gen amplifikasyonu ve protein aşırı ekspresyonu potansiyel tümör gelişimine katkıda bulunabilir. Yanlış negatifliğin değerlendirilmesi, prognoza katkısı açısından hasta sağkalımlarının araştırılması ve bu hipotezimizi doğrulamak için daha ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Mide kanseri, Her2 (c-erb B2), Real-Time PCR, IHC

IV. ABSTRACT

THE ROLE OF HER2 GENE IN PATHOGENESIS OF GASTRIC CANCER AND ITS PROGNOSTIC EFFECTS

Dr. Abdi İbrahim Halil SÖNMEZ

Residency Thesis, Department of Internal Medicine

Supervisor: Prof. Dr. Alper SEVİNÇ

June 2013, 68 pages

BACKGROUND: Gastric cancer is the one of common gastrointestinal cancer tumors. Incidence of gastric tumors changes due to ethnic groups, geographic distribution, diets, economic status, prevalence of h.pylori infections and lifestyle. Genetic factors have an important role in the pathogenesis of gastric cancer and Her2/neu (c-erb B2) gene is one of these genetic factors.

AIM: In this study, we aimed to compare level of Her2/neu gene expression of normal and tumoral gastric biopsy tissues by using Real-Time PCR and level of Her2 protein overexpression of the same tissue by using IHC. If there is a positivity we aimed to detect the association between all known prognostic factors such as; age, sex, stage of disease, localization of tumor and histological type of the gastric carcinoma patients. Also, we want to evaluate if this gene expression is a prognostic factor, it can be used as a therapeutical target.

METHODS: We evaluated prospectively, 50 newly diagnosed gastric cancer patients into this study. Her2 gene expression of normal and tumoral tissues in mRNA level was obtained by using Real-Time PCR technic and immunohistochemical evaluation was made for Her2 protein overexpression from parafinized tumoral tissues. We compared them with each other.

RESULTS: In IHC evaluation result; we detected 5 patients (10 %) had Her2 protein overexpression. In Real-Time PCR reaction datas, we detected that 5 patients (10 %) had Her2 gene amplification. There was no correlation (0 %) between two methods and there is no relationship statistically ($p > 0.05$). There is no statistically relationship between prognostic factors and gene expressions ($p > 0.05$).

CONCLUSIONS: Her2 gene amplification and protein overexpression may be related to potential oncogenetic factors. We need extra studies to detect the false negative rate, to evaluate the survey of the patients, and to supply our hypothesis

Key words: Gastric Cancer, Her2 (c-erb B2), Real-Time PCR, IHC

V. KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ASA	: Asetilsalisilik asit
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CEA	: Karsinoembriyonik antijen
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EGFR	: Epidermal büyüme faktör reseptörü
ELISA	: Enzimle ilişkili immunosorbent assay
FISH	: Flouresan in situ hibridizasyon
GF	: Büyüme faktörü
Her2	: Human epidermal büyüme faktörü reseptörü-2
H.Pylori	: Helicobacter Pylori
IHC	: İmmunohistokimya
ISH	: İn situ hibridizasyon
MNNG	: N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidin
NSAİD	: Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar
PET	: Pozitron emisyon tomografisi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PPI	: Proton pompa inhibitörü
RNA	: Ribo nükleik asit
SISH	: Silver in situ hibridizasyon
TK	: Tirozin kinaz
TNM	: Tümör, lenf nodu, metastaz
TSG	: Tümör suppresör gen
USG	: Ultrason
VKİ	: Vücut kitle indeksi
WHO	: Dünya Sağlık Teşkilatı

VI. TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1 : Mide Kanserindeki Risk Faktörleri	8
Tablo 2 : Her2/neu Geninin İlişkili Olduğu Tümörler	14
Tablo 3 : Mide Kanserinde Kromozomal ve Genetik Değişiklikler	16
Tablo 4 : WHO'ya Göre Mide Kanserinin Histopatolojik Sınıflaması	19
Tablo 5 : Erken ve İleri Mide Kanseri Borrmann Sınıflandırması	20
Tablo 6 : Mide Kanserinde TNM Sınıflandırması	22
Tablo 7 : Mide Kanserinde TNM Evrelemesi	23
Tablo 8 : Mide Kanserinde Japon Sınıflandırması	24
Tablo 9 : Mide Kanserinde Japon Evrelemesi	25
Tablo 10: Mide Kanserinde IHC Skorum Sistemi	31
Tablo 11: cDNA Sentezi İçin Hazırlanan Karışım	33
Tablo 12: Real Time - PCR İçin Hazırlanan Karışım	34
Tablo 13: Hasta Grubunun Sosyo-Demografik Özellikleri	37
Tablo 14: Hastaların Klinik Durumları ve Kullandıkları İlaçlar	37
Tablo 15: Evrelere Göre CEA Düzeylerinin Karşılaştırılması	39
Tablo 16: Evrelere Göre Ca 19-9 Düzeylerinin Karşılaştırılması	39
Tablo 17: Evrelere Göre CEA ve Ca 19-9 Birlikte Yükseklikleri	40
Tablo 18: Metastaza Göre CEA ve Ca 19-9 Birlikte Yüksekliği	40
Tablo 19: IHC Değerlendirmede Her2 Pozitifliği ve SISH korelasyonu	41
Tablo 20: Her2 Aşırı Ekspresyonunun Gruplara Göre Dağılımı	42
Tablo 21: Her2 Gen Amplifikasyonunun Gruplara Göre Dağılımı	43
Tablo 22: Her2 Aşırı Ekspresyonu ve Gen Amplifikasyonunun Karşılaştırılması	43

VII. ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1: H.pylori Enfeksiyonunda Mide Kanseri Gelişme Şeması	6
Şekil 2: Kanser Gelişiminin Temel Şeması ve Karsinogenez	11
Şekil 3: Her2 (c-Erb B2)'nin Yapısı	12
Şekil 4: Her2'nin Aktivasyonu ve Hücree Döngüsüne Etkisi	13
Şekil 5: Erken Mide Kanseri Borrmann Sınıflandırması	21
Şekil 6: Real Time PCR ile Her2 Gen İfadesinin Tespiti	33
Şekil 7: Real Time PCR ile ACTB Gen İfadesinin Tespiti	34
Şekil 8: Hasta Grubunun Yaş Dağılımı	36
Şekil 9: Hastaların Tanıdaki Mide Kanseri Evreleri	38

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mide kanseri sık karşılaşılan bir gastrointestinal sistem tümörüdür (1-4). Yetişkin gastrointestinal sistem tümörlerinde ikinci sırada yer alır (2, 3). İnsidansı etnik grup, coğrafi koşullar, beslenme alışkanlıkları, ekonomik durum, yaşam tarzı ve Helicobacter pylori prevalansıyla farklılık göstermektedir (1, 3, 5-7).

Mide kanserinde moleküler bozukluk protoonkogenlerin aşırı ekspresyonu ve tümör supresör genlerin az ekspresyonu olarak ikiye ayrılabilir. Bunun dışında DNA onarım genlerindeki bozukluklar ve apoptozun düzenlenmesindeki sorunlar da kanser gelişiminde rol alır (8-12). Mide kanserlerinde genetik faktörler arasında tümör supressör genlerden en sık APC ile P53 inaktivasyonu, protoonkogenlerden Ras, c-myc ve Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR) ailesinin bir üyesi olan Her2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2) genlerindeki mutasyonlar, amplifikasyonlar veya aşırı ekspresyonlar saptanmıştır (1, 8, 9, 13, 14).

Her2 proteini (diğer adıyla c-erb B2/neu) bir transmembran tirozin kinaz reseptörüdür (1, 5, 13, 15). Genel olarak hücrelerin diferansiasyonu, proliferasyonu ve yaşamı gibi birçok hücrel olayın kontrolünden sorumludur (1, 13). Her2 proteinleri tümör dokularında mutasyon sonucu amplifikasyonu ve protein aşırı ekspresyonu ile hücrelerin proliferasyonunu arttırarak, apoptozu bozarak, adezyon ve migrasyon gibi basamaklarda da yer alarak tümör hücre biyolojisine katkıda bulunmaktadır (1, 13). Bu da Her2'nin onkogen olduğunu göstermektedir.

Her2 proteini kromozom 17 üzerinde bulunan Her2/neu geni tarafından kodlanır (1, 13, 15, 16). Her2 proteini reseptör olarak görev yapar ve bu reseptör bir ekstrasellüler ligand bağlayan kısım, küçük bir transmembran kısmı ve tirozin kinaz aktivitesine sahip bir intraselüler kısımdan oluşmaktadır (1). Farklı ligandların ekstrasellüler kısma bağlanması ile sinyal iletim kaskadı başlamaktadır ve hücrenin çeşitli biyolojik olaylarına (proliferasyon, apoptoz, diferansiasyon gibi) katkıda bulunmaktadır (1, 13).

Her2 geninin birçok kanser tipinde rolü olduğunu gösteren araştırmalar vardır (1, 17). İnvaziv meme kanserinde % 34 oranında (1, 13, 18, 19) ve diğer kanserlerden kolon (20), özofagus (21), mide (1, 5, 19, 22), mesane (23, 24), over (19, 25, 26), endometrium (27), akciğer (19, 28), serviks (29), baş ve boyun (19, 30) tümörlerinde Her2 amplifikasyonu ve/veya aşırı ekspresyonu saptanmıştır (1, 13).

Literatürde mide kanserlerinin patogenezi, prognozu ve yeni tedavilerinde Her2'nin önemini gösteren çalışmalar bulunmaktadır ve agresif seyreden mide kanserlerinde yeni terapötik ajanlara ihtiyaç duyulduğundan anti-Her2 ajanlar üzerine de araştırmalar yapılmaktadır (13, 22, 31-34).

Bu çalışmanın amacı, yeni mide kanseri tanısı alan ve daha önce tedavi almamış olan hastaların tümöral dokusunda immunohistokimyasal olarak Her2 reseptör düzeyini değerlendirmek, hem normal hem de tümöral mide dokularında polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile mRNA düzeyinde Her2/neu gen ekspresyonunu saptamak, bu düzeyleri karşılaştırmak ve prognoz üzerine olan etkilerini incelemektir. Her2 aşırı ekspresyonu ve artmış aktivitesi kötü prognostik faktör olduğundan çalışma sonucunda Her2 ekspresyonunda artış saptanırsa tanıda prognostik biyomarker ve tedavide terapötik hedef olarak kullanılabilir. Transtuzumab ve lapatinib gibi anti-Her2 ajanların yeni geliştirilen mide kanseri tedavi stratejilerine eklenmesine katkı sağlamayı amaçlamaktayız. Bu durumun hastaların yaşam süresini arttırmaya katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Mide Tümörlerinin Genel Özellikleri

Mide tümörleri gastrointestinal sistemin en sık görülen tümörlerindedir. Çoğunluğu epitel kaynaklı olup % 90-95'i maligndir. Nadiren yağ dokusu, kas dokusu, lenfoid doku ve diğer dokulardan da köken alırlar. Benign mide tümörleri arasında en sık polipler, lipom ve leiomyom gibi tümörler görülür (4, 35).

Mide malign tümörleri diğer adıyla mide kanserleri en sık karşılaşılan gastrointestinal sistem kanserlerinden biridir (1-4). Yetişkin gastrointestinal sistem tümörlerinde ikinci sırada yer alır (2, 3). Dünyada kansere bağlı ölümlerde ilk sıralarda yer almaktadır. Enfeksiyona bağlı gelişen kanserler arasında dünya çapında birinci sırada yer almaktadır. Mide kanserlerinin % 90-95'ini adenokarsinomlar oluşturur. Yaklaşık % 5'ini lenfomalar ve % 3'ünü ise malign mezenkimal ve stromal maligniteler oluşturmaktadır. Metastazlar ise çok nadir (< % 1) de olsa görülmektedir (3, 4, 35).

2.2 Mide Kanseri

2.2.1 Mide Kanserinde Epidemiyoloji

Mide kanseri yetişkin gastrointestinal sistem tümörlerinde ikinci sırada yer almaktadır (2, 3). Dünyada en sık görülen kanserler arasında erkeklerde dördüncü ve kadınlarda beşinci sıradadır. Mide kanserinin insidansı gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre daha düşüktür (3). İnsidansı etnik grup, coğrafi koşullar, beslenme alışkanlıkları, ekonomik durum, yaşam tarzı ve Helicobacter pylori (H.pylori) prevalansı ile farklılık göstermektedir (1, 3, 5-7). Mide kanserinin görülme sıklığının bölgeden bölgeye büyük oranda değişmesi çevresel faktörlerin de etkili olduğunun bir kanıtıdır (6).

Dünyadaki dağılıma bakıldığında; mide kanserinin % 60'ının gelişmekte olan ya da az gelişmiş ülkelerde saptandığı görülmektedir. Bu da coğrafi farklılıklarla birlikte sosyoekonomik durumun da önemli bir etken olduğunun göstergesidir. Mide kanseri

sosyoekonomik düzeyi düşük ülkeler için ön planda sağlık sorunu iken Japonya mide kanserinin sık rastlandığı gelişmiş ülke olma özelliğini taşımaktadır. Hastalık en sık Japonya, Rusya, Güney Amerika, Doğu Avrupa ve Ortadoğu Asya'da görülmektedir. Bu ülkelerde oran 30-85/100.000 arasında değişmektedir. ABD, Batı Avrupa, Yeni Zelanda, Avustralya daha nadir görüldüğü ülkelerdir. Buralardaki insidansı ise 10/100.000'in altındadır. Siyah ırkta beyaz ırka göre daha sık görülür. Bazı ülkelerde kırsal alanda mide kanseri riski yüksek iken kentleşmeyle bu risk azalmaktadır (1, 3, 4, 36, 37).

ABD'de mide kanserinin insidansı yaklaşık 9,6/100.000 iken Japonya'da erkeklerde 78,8/100.000 ve kadınlarda 46,3/100.000'dir (3, 35). Mide distal kesimindeki tümör insidansında azalma olurken kardiya ve gastroözofajiyal bileşke tümörlerinde artış saptanmıştır (38). Yıllık yeni tanı mide kanseri vaka sayısı dünya çapında 870.000 iken tüm dünyada bir yılda kansere bağlı ölümlerin % 10'u mide kanserine bağlıdır (2-4).

Az gelişmiş ülkelerde insidansı yüksek olan beş kanser tipinin üçünde (mide, serviks ve karaciğer) enfeksiyöz ajanların rolü büyüktür ve mide kanseri enfeksiyona bağlı gelişen maligniteler arasında ilk sırada yer almaktadır. Bu da enfeksiyöz ajanlara maruziyetin gelişmekte olan ülkelerde özellikle mide kanseri gelişiminde bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (3, 4, 39).

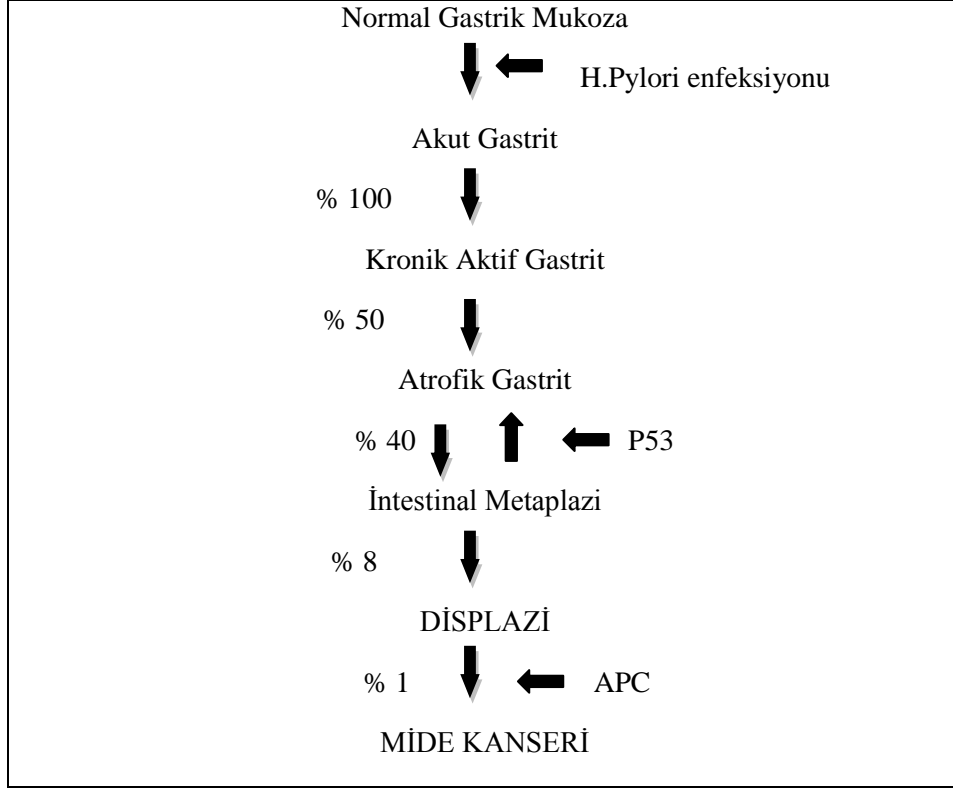
Mide kanseri erkeklerde kadınlara göre 2-3 kat daha fazla görülür ve 55 yaş üzerinde daha sıktır. Her yıl yaklaşık 737.000 kişi mide kanseri nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Mide kanseri, kansere bağlı mortalitede erkeklerde üçüncü kadınlarda ise beşinci sırada yer almaktadır (3). Mide kanseri dünya çapında en sık mortalite nedeni olan malignitelerden biridir. Mide kanserlerinin mortalitesi de çeşitli ülkelerde farklılıklar göstermektedir. Birçok ülkede tanı sonrası yaşam süresi çok kısadır, bunun nedeni spesifik semptomların olmaması ve geç evrelerde tanı konmasıdır. Buna karşılık gastrik karsinomun sık görüldüğü bir ülke olan Japonya'da ise rutin tarama yapıp erken tanı konulduğundan mortalite oranı belirgin derecede azalmıştır. Japonya'da 5 yıllık yaşam süresi % 50'lere ulaşmaktadır (4, 6, 40, 41).

2.2.2 Mide Kanserinde Etyopatogenez

Mide kanserlerinin dünya üzerindeki dağılımının büyük farklılıklar göstermesi, patogeneizde çevresel faktörlerin rolünün güçlü olduğunun bir kanıtıdır. Ayrıca genetik faktörler de patogenezden sorumludur (3, 4).

Çevresel faktörlerin mide kanserinin etyolojisinde yer aldığını gösteren bir diğer bulgu göçmenlerin yerleştikleri bölgelerdeki insidansa uygun değerlere sahip olmalarıdır. Japonların göç ettikleri düşük risk bölgelerinde mide kanseri insidansı Japon toplumlara göre azalmaktadır (4, 7, 42, 43).

Mide kanseri gelişimiyle ilişkisi en yüksek bulunan durumun H.pylori enfeksiyonu olduğu saptanmıştır (4, 35). H.pylori enfeksiyonunun sebep olduğu kronik gastrit, atrofik gastrit gibi hipoklorhidrik ortamın sağlanması, premalign intestinal metaplazi ve displazi gibi nedenler mide kanseri ile ilişkilidir (1, 4, 44-47). H. pylorinin salgıladığı amonyağın kanserojen etkinin temelini oluşturduğu bildirilmiştir. Yine H.pylorinin içerdiği alkol dehidrogenazın asetaldehit oluşturduğu ve asetaldehitin hücre proliferasyonunu arttırdığı, sonuçta DNA zedelenmesi ve malign transformasyon yaparak kansere neden olabileceği araştırılmıştır (Şekil 1). H.pylori WHO tarafından 1. sınıf gastrik karsinojen olarak sınıflanmıştır (11, 35, 45). H.pylori enfeksiyonu çoğu bölgelerde % 50 oranında görülmekteyken kanser gelişimi 10 yıl H.pylori pozitif olanların % 5'inde görülmektedir (4, 11). Bu da mide kanseri gelişiminde H.pylori enfeksiyonuna ek olarak başka faktörlerinde etkili olduğunu göstermektedir (ajanın virulansı, hastanın yaşı, sigara kullanımı, cinsiyeti, genetik yatkınlığı ve en önemlisi beslenme şekli gibi) (11, 44, 48).



Şekil 1: H.Pylori Enfeksiyonunda Mide Kanseri Gelişme Şeması (11)

H.pyloriye karşı kullanılan tedavilerin gelişmesi ile özellikle asiditenin azaltılması premalign lezyonları azaltmıştır ancak bu tedavilerle mide distal kesimindeki tümör insidansında azalma olurken kardiya ve gastroözofajiyal bileşke tümörlerinde artış saptanmıştır (49, 50). Bazı çalışmalar H.pylori enfeksiyonunun özellikle distal mide kanseri riskini daha belirgin arttırdığını göstermiştir (48).

Yüksek riskli gruplarda yapılan çalışmalarda N-nitrozo bileşikleri gibi toksik ajanların gastrik kanser gelişiminde rol oynayabileceği gösterilmiştir. Diyetlerde bolca bulunan nitratlar midede nitrozasyona uğrayarak N-nitrozo bileşiklerini oluşturur. Oral olarak uzun süre alınan nitrozamin türevlerinin (N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidin - MNNG) pilorik bezlerde genişleme ve hücrel proliferasyon oluşturduğu, devamında hiperplazi ve intestinal metaplazi geliştirdiği raporlanmıştır. Mide kanserinin sık görüldüğü ve mortalitenin yüksek olduğu bölgelerde toprak ve içme sularında yüksek miktarda nitrat saptanmıştır. Diyetle ilgili diğer faktörler arasında fazla tuzlu ve konserve edilmiş gıdalar (salamura-turşu gibi), tutsülü gıdalar (özellikle endemik bölgelerde), taze sebze ve meyveden yoksun beslenme ve sigara yer almaktadır (3, 5, 35, 46, 51-53).

Sigara metaplazi ve displazi riskini arttırmakta ve diğer risk faktörleriyle birlikte kanser gelişimine katkıda bulunmaktadır (4, 54). Sigara kullanımının mide kanseri riskini arttırdığı gösterilmiş olup sigara ve alkolün birlikte kullanımı riski daha da arttırmaktadır (55).

Amerika'da yapılan bazı çalışmalarda aşırı kilo ve obezitenin de özellikle proksimal mide kanserleri için bir risk faktörü olabileceği savunulmuştur. Vücut kitle indeksindeki (VKİ) artışın ve yüksek kalorili diyetin kardiyaya ve gastroözofajiyal bölge tümörleri ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. VKİ arttıkça reflü sıklığı arttığından bu da riskin arttığına bir göstergesidir (56).

Mide kanserinin endemik olduğu bölgelerde intestinal metaplazi olsun ya da olmasın atrofik gastritin olduğu gözlenmiştir. Ayrıca pernisiyöz anemi de mide kanserini riskini birkaç kat arttırmaktadır. Aklorhidri H.pylori enfeksiyonu, pernisiyöz anemi ve nitratların nitrite çevrilmesini sağlayan bakterilerin çoğalması gibi diğer faktörlere bağlı gastritle ilişkilidir. Aklorhidri gibi atrofik gastrit de benzer şekilde mide kanseri gelişiminde indirek etkilidir (4, 35).

Benign gastrik ülserler mide kanseri riskini arttırmıyor gibi görünseler de tedavi amaçlı subtotal gastrektomi yapılan hastalarda 15-20 yıl sonra mide kanseri gelişme riski 2-3 kat artmıştır. Gastrik adenomatöz poliplerin ve kronik peptik ülserin mide kanserine yatkınlık oluşturduğu bilinmektedir ve Menetrier hastalığı (hipertrofik gastropati), gastrektomi sonrası oluşan güdükler gibi durumlar da mide kanseri riskini arttırmaktadır (35, 57).

Genetik faktörlerin de mide kanserinin gelişiminde rol oynadığı kesindir. Örneğin kan grubu A olanlarda endemik olmayan bölgelerde bile mide kanseri sıklığı artmıştır. Birinci derece akrabalarda mide kanseri bulunanların mide kanseri riski 3 kat artmaktadır (58). Genç bireylerde görülen ailesel diffüz herediter mide kanseri olgularında E-cadherin geninde mutasyonlar olduğu saptanmıştır (11, 59-61). Ayrıca mide kanseri herediter nonpoliposis kolorektal kanserle de ilişkilidir (11, 35).

Tüm bu faktörler göz önüne alındığında yaş da bir risk faktörü olarak görülebilir. Yaşam süresi uzadıkça predispozan faktörlere (H.pylori kronik gastriti, sigara kullanımı, diyetle bağlı nedenler gibi) maruziyet arttığı için 55 yaş ve üzerinde daha sık görülmektedir. Hastalığın insidansının arttığı bölgelerde daha erken yaşlarda görülür. Cinsiyet de risk faktörleri arasında yer alır. Erkeklerde mide kanseri insidansı kadınlara göre 2-3 kat daha fazladır. Ayrıca siyah ırkta beyaz ırka göre mide kanseri daha sık görülür (4, 35, 37, 41).

Burada anlatılan mide kanserinin tüm risk faktörleri Tablo 1’de sunulmuştur.

Tablo 1: Mide Kanserindeki Risk Faktörleri (4)

<p>1. Çevresel Faktörler:</p> <ul style="list-style-type: none">-Helicobakter Pylori enfeksiyonu (kronik)-Diyet: Aşırı tuz alımı, nitrat ve nitritli besinler, dondurulmuş gıdalar, salamura-konserve ve turşular, tütümlü yiyecekler, taze sebze ve meyveden (vitamin A ve C’den) yoksun beslenme-Yaşanılan fiziksel ortam-Sigara kullanımı-Düşük sosyoekonomik düzey-Radyasyon maruziyeti-Ebstein-barr virüs enfeksiyonu
<p>2. Genetik Faktörler:</p> <ul style="list-style-type: none">-Hereditör mide kanseri (E-cadherin mutasyonu)-Hereditör non-poliposis kolorektal kanser birlikteliği-Familial adenomatöz poliposis koli ve mide kanseri birlikteliği-Li-Fraumeni sendromu-A kan grubu-Genetik anormallikler ve mutasyonlar
<p>3. Predispozan Durumlar:</p> <ul style="list-style-type: none">-Kronik gastrit, Helicobacter pylori’ye bağlı atrofik gastrit-Pernisiyöz anemi-Aklorhidri yapan nedenler-İntestinal metaplazi-Gastrik adenomatöz polip-Kronik peptik ülser-Subtotal gastrektomi sonrası remnant mide dokusu-Gastrik epiteliyal displazi-Menetrier hastalığı

Mide kanserinde koruyucu etkiye sahip bazı faktörler de vardır. Örneğin; hiperasidite ve duodonal ülserin koruyucu olduğu savunulmuştur. Taze sebze ve meyveden zengin diyet,

vitamin C ve β -karoten de diğerkoruyucu etkiye sahip faktörlerdir. Antioksidan etkilerle nitrozlanmayı inhibe ederek koruyucu rol oynarlar. Asetilsalisilik asit (ASA) ve steroid olmayan antiinflatuar ilaçların da koruyucu olduğu savunulmaktadır (4, 62).

2.2.3 Mide Kanseri ve Genetik Faktörler

2.2.3.1 Kanser ve Genetik

Bilindiğı gibi tüm kanser tiplerinin gelişiminde kalıtsal gen mutasyonları ve uzun sürede oluşan genetik mutasyonlar belirgin rol oynamaktadırlar. Normal bir hücrenin bölünüp çoğalması, benzer şekilde farklılaşması ve fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için genetik yapısını koruması gerekmektedir. Bu yapılanma ile yaşanan hücrelerin, gereğinden fazla oluşan hücrelerin ve genetik yapısında bozulma saptanan hücrelerin programlı hücre ölümü (apoptoz) ile ortadan kaldırılması gerekir. Proliferasyon, büyüme, farklılaşma ve apoptozdan oluşan döngüye yaşam döngüsü adı verilir. Bu döngü başta uyarıcı veya inhibitör hormonlar, nörotransmitterler, çeşitli sitokinler, uyarıcı veya inhibitör büyüme faktörleri (growth factor: GF) tarafından düzenlenir. Bu faktörler kendilerine spesifik reseptörlere bağlanarak hücrelere etkilerini gösterirler (10-12).

Büyüme faktörleri (GF) proliferasyondan apoptoza kadar tüm hücre döngüsü basamaklarını düzenlemekte görev alırlar. GF'ler kendilerine özgü reseptörlerine bağlanınca diğerk proteinleri fosforile eden tirozin kinaz (TK) adlı enzimi aktive ederek hücre döngüsünü başlatırlar. Bu basamakların herhangi birinde oluşan düzensizlik veya aşırı aktivasyon hücre döngüsünün kontrolünü bozup hiperplazi, metaplazi, displazi ve sonunda karsinom ile sonuçlanabilir. Bu yüzden bu basamaklarda rol oynayan çeşitli genler ancak düzenli bir şekilde fonksiyon gösterdiklerinde hücre döngüsünün düzenini sağlarlar (10, 12).

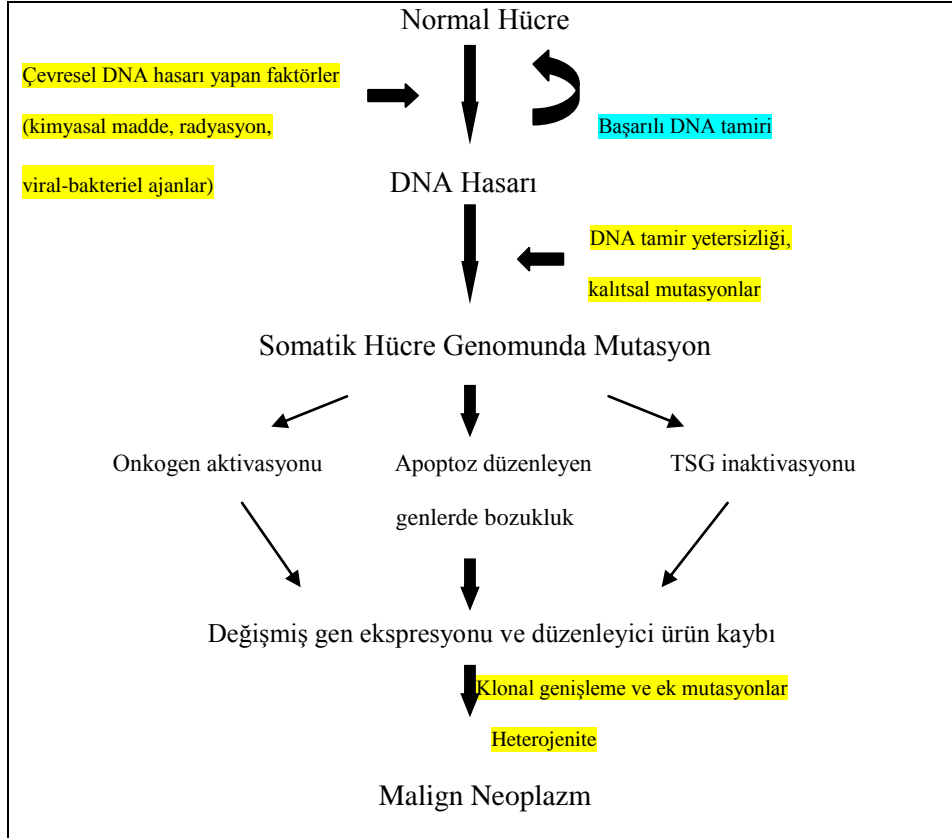
Hücre döngüsünde yer alan ve değişim-mutasyon sonucu kanser gelişimine neden olan genler özellikle protoonkogenler ve tümör suppressor genlerdir. Ayrıca apoptozun engellenmesi ve DNA onarım enzimlerindeki inaktivasyon da kanserojen etkiye sahiptir (8-12).

Protoonkogenler normalde hücre çoğalmasını sağlayan ve stimüle eden genlerdir. Protoonkogenlerde oluşan herhangi bir değişiklik hücre çoğalmasına neden olur. Protoonkogenlerdeki değişikliklerin çoğu gen amplifikasyonu, translokasyon veya nokta mutasyondur ve bu değişiklikler sonucunda protoonkogenler, onkogen haline dönüşürler (Örneğin Ras, c-myc, abl, c-erb B2 diğerk adıyla Her2/neu gibi) (11, 12). Onkogenler, hücre

çoğalmasını uyaran büyüme faktörlerinin hücre membranı üzerindeki reseptörlerine bağlanmasından nükleus içinde hücre bölünmesi ile ilgili genetik materyalin transkripsiyonuna kadar tüm aşamaları etkileyen proteinleri kodlarlar. Gen amplifikasyonu genin kopya sayısının artmasını gösterir ve böylece protein sentezi de artar, artmış proteinler fazla aktivasyonla hücre çoğalmasını arttırır. Translokasyon ise iki kromozom arasında karşılıklı segment değişimidir. Bu genlerin kendisini kontrol edemeyen düzenleyici elemanların yanına yerleşmesiyle eksprese edilen protein miktarında artış olur ve yine düzensiz hücre çoğalmasına neden olurlar. Özellikle transkripsiyon faktörleri ve TK içeren bölgelerin aktivitesindeki artış bu yolla olur. Noktasal mutasyonlarda ise DNA replikasyonu sırasında bir veya birkaç kodonda yanlış baz çiftleşmesiyle protein sentezi tamamlanamaz ve mutasyona uğramış bu proteinler protoonkogenlerin sürekli aktivasyonuna yol açar. Bu da onkogen olarak görev yapmasını sağlar (10, 12).

Tümör supresör genler (TSG) hücre çoğalmasını sınırlandıran ve gerektiğinde bölünmeye izin veren genlerdir. Bu genlerdeki herhangi bir mutasyon inaktivasyona neden olursa anormal hücrede düzensiz çoğalma başlar (Örneğin; APC, p53, Rb, genleri) (11, 12).

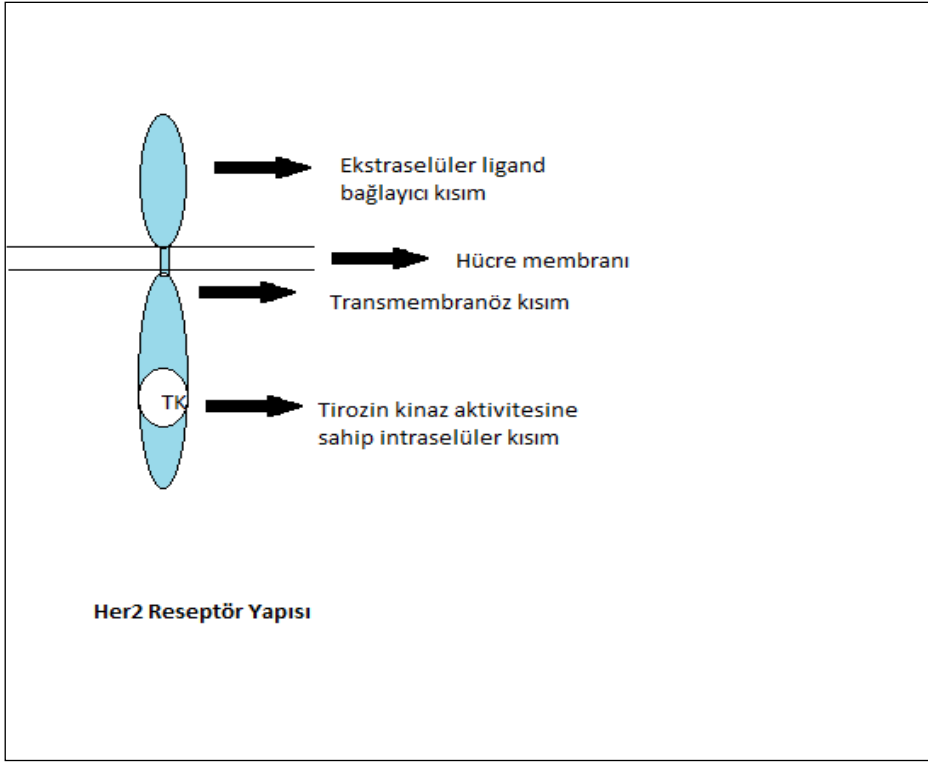
Normal hücrenin kanserojen hücreye dönüşmesinde en sık görülen genetik anormallik hem onkogen aktivasyonunun hem de tümör supresör gen inaktivasyonunun bir arada bulunmasıdır (11, 12). Bunlara ek olarak çeşitli mutasyonlar, DNA onarım sorunu gibi nedenler bu süreci hızlandırır ve büyüme yolaklarının aktivasyonu ile kontrolsüz çoğalma sağlanır. Yolaklarda oluşan bu aktivasyon sınırsız ve düzensiz replikasyona neden olur. Ayrıca apoptoz engellenerek sonrasında anjiogenez, invazyon ve metastaz gibi basamaklarla tümöröenez basamakları oluşur (12).



Şekil 2: Kanser Gelişiminin Temel Şeması ve Karsinogenez (10)

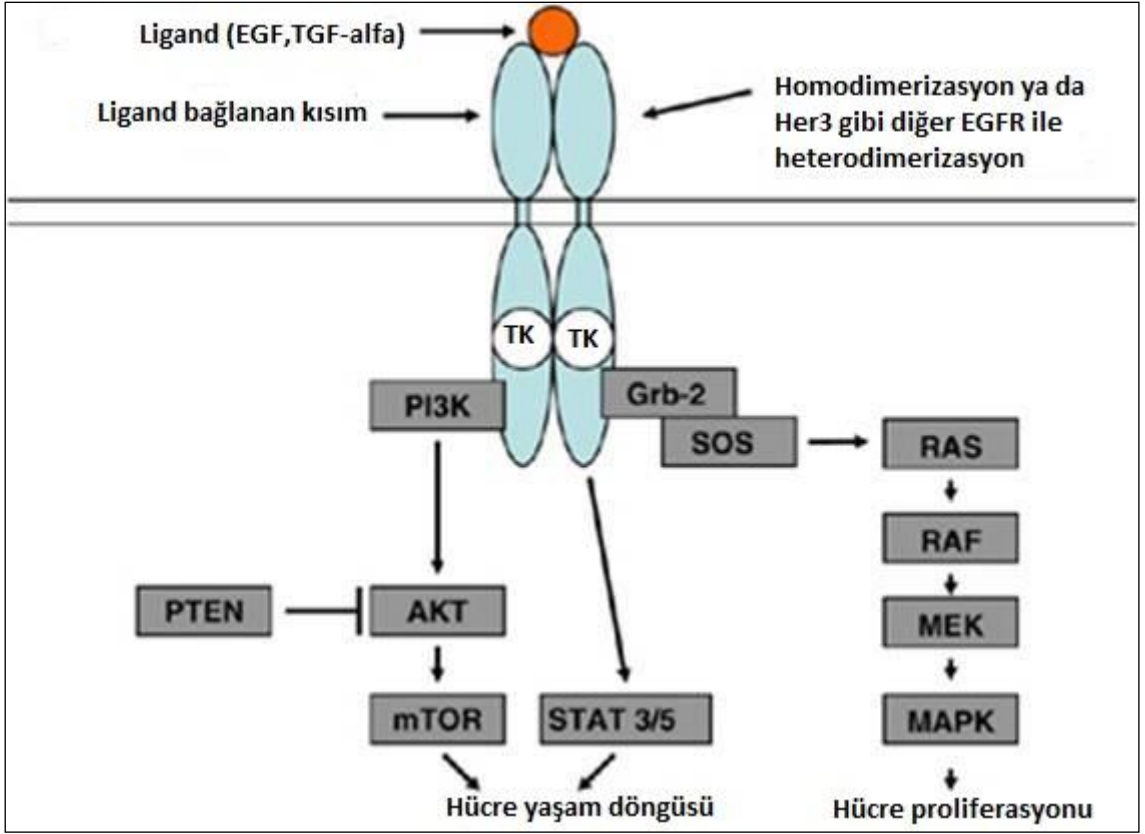
2.2.3.2 Kanser ve Her2/neu (c-Erb B2) geni

Epidermal büyüme faktör reseptörleri (EGFR) birçok sinyal iletim kaskadıyla proliferasyon, farklılaşma, hücre yaşama, migrasyon ve adezyon gibi çeşitli hücre olaylarında rol alan ve hücre homeostazından sorumlu TK reseptör ailesidir (63). Her2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2, diğer adıyla c-erb B2/neu) EGFR ailesinin bir üyesi ve transmembran TK reseptörüdür (1, 5, 13, 15). Her2 proteini kromozom 17 üzerinde bulunan (17q21) Her2/neu (c-erb B2/neu) protoonkogeni tarafından kodlanır (1, 13, 15, 16). Kodlanan bu Her2 proteini 185 kDa molekül ağırlıklı, 1255 aminoasitli bir transmembran glikoproteinidir ve reseptör olarak görev yapar. Bu reseptör bir ekstraselüler ligand bağlayan kısım, küçük bir transmembran kısmı ve TK aktivitesine sahip bir intraselüler kısımdan oluşmaktadır (1) (Şekil 3).



Şekil 3: Her2 (c-Erb B2)'nin Yapısı

Her2 reseptörünün intraselüler kısmı büyüme ve diferansiyasyonun en önemli düzenleyicilerinden biridir. Spesifik bir ligandı olmadığından farklı ligandların ekstraselüler kısma bağlanması ile sinyal iletim kaskadı başlamaktadır. Homodimerizasyon ya da heterodimerizasyon sonrası aktive olarak hücrenin çeşitli biyolojik olaylarına (proliferasyon, apoptoz, diferansiyasyon gibi) katkıda bulunmaktadır (1, 13) (Şekil 4). Normal hücrede proliferasyon, apoptoz, adezyon, migrasyon, diferansiyasyon gibi birçok basamakta görev alır. Her2/neu geni tümöral dokuda mutasyon sonucu onkogen olarak görev yapar; hücre membranında reseptör aşırı ekspresyonuna buna bağlı TK aktivitesinde artışa yol açar ve tümör dokularında hücrelerin proliferasyonunu artırarak, apoptozu bozarak, adezyon ve migrasyon gibi basamaklarda da yer alarak tümör hücre biyolojisine katkıda bulunur (1, 13).



Şekil 4: Her2 'nin Aktivasyonu ve Hücre Döngüsüne Etkisi

Yapılmış olan çeşitli araştırma ve çalışmalarda Her2/neu geni başta meme kanseri olmak üzere birçok kanserde pozitif saptanmıştır. Birçok kanser tipinin gelişiminde rolü olduğunu ve bu kanser tipleri için prognostik önemini gösteren araştırmalar vardır (1, 17). İnvaziv meme kanserinde yaklaşık % 34 oranında (1, 13, 18, 19) ve diğer kanserlerden kolon (20), özofagus (21), mide (1, 5, 19, 22), mesane (23, 24), over (19, 25, 26), endometrium (27), akciğer (19, 28), serviks (29), baş ve boyun (19, 30), pankreas (64), prostat (65) kanserlerinde Her2 gen amplifikasyonu ve/veya aşırı ekspresyonu saptanmıştır (1, 13) (Tablo 2).

Tablo 2: Her2/neu Geninin İlişkili Olduğu Tümörler

Tümör Tipi	Pozitiflik Oranı
Mide Kanseri	% 8,5-32
Meme Kanseri	% 30-42
Kolon Kanseri	% 18-25
Özofagus ve Gastrik Bileşke Tümörleri	% 22-42
Over Kanseri	% 9-32
Endometrium Kanseri	% 25-27
Akciğer Kanseri	% 27
Serviks Kanseri	% 14-17
Baş-Boyun Tümörleri	% 40-49
Pankreas	% 44
Prostat	% 28
Mesane	% 14-20

Bakılan kanser tiplerinde Her2 değerlerindeki farklılıklar yapılan araştırmalarda kullanılan yöntemle bağlıdır. Kullanılan yöntemler: İmmünohistokimya (IHC), in situ hibridizasyon (ISH)'un özel bir tipi Flouresan in situ hibridizasyon (FISH), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve enzimle ilişkili immunosorbent assay (ELISA) gibi yöntemlerdir. Bu yöntemlerden en sık kullanılanlar FISH ve IHC'dir (66).

Mide ve gastroözofajiyal bileşke tümörlerinde ise yaklaşık % 8,5-32 arasında pozitiflik saptanmıştır (1, 5, 13, 21, 34).

Her2 aşırı eksprese eden tümörler agresif seyreden, nüks riski yüksek ve daha kötü prognozlu tümörlerdir. Meme kanserli hastalarda Her2 pozitifliği saptanan tümörlerin, negatif olanlara göre yüksek derece proliferasyon, invazyon, lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Her2, meme kanseri için prognostik bir faktördür ve anti-Her2 tedavilerin (trastuzumab gibi monoklonal antikor, lapatinib gibi tirozin kinaz inhibitörü) kullanılması ile prognoz açısından olumlu bir faktör haline, hedef spesifik tedavi haline dönüşmüştür (67, 68).

2.2.3.3 Mide Kanseri ve Her2

Gastrointestinal tümörlerin büyük kısmı çevresel faktörlere eklenen mukozal onarım yeteneğini kaybetmesine ek olarak protoonkogen aktivasyonu ve TSG inaktivasyonuna bağlı gelişir. Gen mutasyonları gibi genetik faktörler mide kanserinin gelişiminde de önemli yer tutmaktadır (5, 35). Mide kanserlerinde genetik faktörler arasında TSG'lerden en sık APC ile P53 inaktivasyonu, protoonkogenlerden ise Ras, c-myc ve EGFR ailesinin bir üyesi olan Her2/neu genlerindeki mutasyonlar, amplifikasyonlar ve/veya ekspresyonlarda artış bulunmuştur (1, 13, 14). Mide kanserlerindeki kromozomal ve genetik değişiklikler tablo 3'de özetlenmiştir. Mide kanserlerinin iyi differansiye büyük bir kısmında da EGFR, EGF ve Her2 aşırı ekspresyonları saptanmıştır. Mide ve gastroözofajiyal bileşke tümörlerinde yaklaşık % 8,5-32 arasında değişen bir pozitiflik saptanmıştır (1, 5, 13, 21, 34).

Mortalitesi yüksek olan ve 5 yıllık surveyi % 10-20'nin altında olan mide kanserinde tedavi amaçlı öncelikle patogeneze ve genetik faktörler üzerinde durulmuştur. Bunlardan Her2 aşırı ekspresyonunun sık görülmesi sonucu patogenezele ilişkisi araştırılmıştır (1, 5, 15, 31).

Mide kanseri hastalarında p53 geni mutasyonları ile invazyon derinliği, lenf nodu metastazı ve kötü prognoz açısından pozitif korelasyon saptanmıştır. Benzer şekilde Her2 pozitifliği mide kanseri hastalarında prognozu daha da kötüleştirmektedir. Her2 pozitifliği gösteren tüm tümörler lenfatik invazyonu ve metastazı daha erken yapar ve tedavi sonrası sağ kalım süresi kısadır. Mide kanseri ve Her2 üzerine yapılmış olan bazı araştırmalarda Her2 pozitifliği saptanan hastaların prognozlarının kötü ve surveylerinin kısa olması nedeniyle Her2'nin mide kanseri için de kötü prognostik faktör olduğu düşünülmüştür. Bu yüzden anti-Her2 tedavisi (Örn:Transtuzumab, lapatinib gibi), Her2 pozitifliği saptanmış mide kanserlerinde Her2 reseptör proteininin aktivitesini azaltacağından direk antiproliferatif etki oluşturup antitümoral etki gösterecek ve prognoz açısından anlamlı bir katkı sağlayacaktır (5, 13, 69).

Her2 pozitifliğinin mide kanserlerinden özellikle Lauren sınıflamasına göre intestinal tipte daha fazla görülmesi dikkati çekmektedir (13, 15, 33, 61, 70-72).

Tablo 3: Mide Kanserinde Kromozomal ve Genetik Değişiklikler

Onkogenler:		
Gen	Nükleotidler (kb)	Kromozom
K-ras	50	12p12.1
Her2	NDA	17q21
hst-1	11	11q13.3
int-2	10	11q13
c-myc	6-7	8q24
c-met	NDA	7q31
Tümör Supresör Genler:		
Gen	Nükleotidler (kb)	Kromozom
p53	12.5	17p13.1
APC	120	5q21
DCC	1400	18q21
Rb 1	180	13q14.2
E-Cadherin	100	16q22.1

Meme kanserinde Her2 overekspresyonu saptanan hastalarda kullanılan antiHer2 ajanlar tek başlarına % 15-25 cevap oranına sahipken kemoterapi protokollerine eklendiğinde cevap oranı % 50'leri aşmaktadır (68). Meme kanserindeki kötü prognostik faktörlerden biri olan Her2 pozitifliğinin, yine aynı tedavi ile mide kanseri için prognostik bir belirteç olarak kullanılabileceğini ve sağkalım üzerine olumlu katkılarının olduğunu gösteren araştırmalar da mevcuttur (5, 13, 69).

2.2.4 Mide Kanserinde Klinik Bulgular

Erken evre mide kanserlerinde, hastaların büyük çoğunluğunda herhangi bir belirti görülmemektedir. Erken evrelerde asemptomatik olan hasta oranı çok yüksekken düşük oranda iştahsızlık, dispepsi, karın ağrısı, bulantı, kusma, erken doyma, kilo kaybı, kanama gibi nonspesifik semptomlar görülmektedir (4, 35, 73, 74).

Özellikle Japonya gibi mide kanseri sıklığı nedeniyle hastalara izlem protokolü ve tarama uygulanan ülkelerde erken mide kanseri, tüm mide kanserlerinin % 90'ını kapsarken, bu oran izlem protokolü uygulanmayan ülkelerde % 20 civarındadır. Ülkemizde ise bu oranın % 10'dan daha az olduğu tahmin edilmektedir. Geniş serili çalışmalarda erken evre mide kanseri tanısı konulan hastaların % 80 oranında asemptomatik olduğu bildirilmektedir. Mevcut semptomlar ise genellikle dispeptik yakınmalardır. Fizik muayene bulguları genellikle normaldir (4, 73, 74).

İleri evre mide kanserlerinde ise klinik bulgular nisbeten fazladır. Bu hastalarda asemptomatik hasta oranı % 5'in altındadır. Buna rağmen hastaların % 95'inde iştahsızlık ve kilo kaybı mevcuttur. Proksimal kısımdaki tümörlerde disfaji daha siktir. Bunun dışında hastalar dispepsi, obstruksiyon bulguları, bulantı ve kusma, karın ağrısı, yutma güçlüğü, kanama, melena ve erken doyma gibi spesifik olmayan şikayetlerle başvururlar (4, 41, 73). Kilo kaybı olan hastalarda yaşam süresinin kısa olduğu gösterilmiştir (73). Bulantı ve kusma özellikle pilor bölgesinde lokalize olan ya da tüm mideyi kaplayan ileri dönem hastalarda görülür. Kanama sık görülmemesine rağmen anemiye daha sık rastlanır. Asit, sarılık ve palpe edilebilen kitlenin olması hastalığın metastatik olduğu ve tedavinin yetersiz olacağı hakkında bilgiler verir (4, 41).

Fizik muayenede epigastrik hassasiyet, epigastrik kitle, hepatomegali, asit saptanabilir. Mide kanserleri direk, implantasyonla, lenfatik ya da hematojen yolla yayılabilir. Direk yayılımla omentum, karaciğer, kolon invazyonu yapabilir. İmplantasyon yoluyla kadınlarda overe yayılır ve over metastazları (Krukenberg tümörü), erkekte rektovezikal fossaya yayılarak perirektal kitleye (Blummer rafi) neden olur. Lenfatik yolla perigastrik, ilyak, splenik, pankreatik lenf nodları ve duktus torasikus aracılığı ile sol supraklavikular lenfadenopatiye (Virchow nodülü) ve sol anterior aksiler lenfadenopatiye (Irish nodülü) neden olur. Hematojen yolla en sık metastaz karaciğere olur. Akciğer, kemik, adrenal bezler, deri çok nadir de olsa santral sinir sistemi metastazı görülür. Bazen umblikal nodüller (Sister Mary Joseph nodülleri) saptanabilir. Asit ileri evrelerde sık görülür. Akciğer metastazı olan hastalarda plevral effüzyon görülebilir (4, 35).

2.2.5 Mide Kanseri Tanı

Mide kanserli hastalarda erken evreler asemptomatik olduğu için tanı genellikle geç evrelerde konur ve bu da mortalitede artış nedenidir. Mide kanserleri tüm dünyada kansere bağlı mortalitede ikinci sırada yer almaktadır (1, 2, 13).

Japonya gibi hastalığın endemik olduğu ülkelerde tarama yapılmaktadır ve taramada H.pylori serolojisi, çift kontrast baryum grafisi, endoskopi ve biyopsi gibi yöntemler kullanılmaktadır (75).

Tanıda kullanılan radyolojik çift kontrastlı baryum grafilerinin sensitivitesi % 50-60 civarında olduğu için günümüzde daha az tercih edilmektedir. Çekilen grafide malign ülser kenarında irregüler ve nodüler yapı mevcuttur. Ayrıca ülser krateri asimetrik ve düzensizdir. Mukozal pililerde ani kesilme, düzensizleşme ve füzyon saptanabilir. Mide lümenine ekzantrik yerleşimli kitlesel lezyonlar neoplazi (polip ya da malignite) lehinedir (4).

Tanı için en önemli araç endoskopidir. Endoskopi ile alınan biyopsi kesin tanıyı sağlar. Düzensiz ve tedaviye yanıt vermeyen mide ülser patolojisi benign olarak sonuçlansa da lezyonun hem kenarlarından hem de tabanından çok sayıda biyopsi alınmalıdır. Endoskopik USG (endosonografi) erken evre mide kanseri olan hastalarda tümörün infiltrasyonunu ve bölgesel lenf nodu tutulumunu göstermede yardımcıdır (4, 35, 41).

Mide kanserlerinin en sık yerleştiği bölge antrapilorik bölgenin küçük kurvatur tarafı olup lokalizasyonların sıklığı, % 50-60 antrum ve pilor, % 25'i kardiya, geri kalanı korpus ve fundusta yer alır. % 5-7 sıklıkta ise tüm midenin tutulduğu görülmüştür. Bu sebeple gastrik ülser saptanan hastalarda lokalizasyona göre malignite riski de artmaktadır (4).

Tanıda erken dönemde laboratuvar değerlerinde anormallik olmayabilir. Anemi ileri evrelerde kronik kan kaybına bağlı mikrositer olabileceği gibi, pernisiyöz anemiye bağlı makrositer de olabilir. Kronik kan kaybında gaytada gizli kan pozitif olabilir. Karaciğer metastazı olan hastalarda karaciğer enzimlerinde yükselme saptanabilir, sedimentasyon artabilir. Daha çok takip amaçlı kullanılan tümör belirteçlerinden CEA ve Ca 19-9 değerleri ileri evrelerde yükselebilir (4, 35).

2.2.6 Mide Kanserinde Histopatoloji

WHO sınıflamasında mide kanseri morfolojik özelliklerine göre tiplendirilir. Bunlar: Adenokarsinom (diffüz ve intestinal tip), adenoskuamöz karsinom, skuamöz hücreli karsinom, indifferansiye karsinom ve sınıflandırılmayan karsinomlardır (Tablo 4). Mide karsinomlarının % 90-95'i adenokarsinomdur ve 2010 WHO sınıflamasına göre adenokarsinom 5 subtipe ayrılmıştır. Bunlar diferansiyasyon derecesine göre papiller, tübüler, müsinoz, taşlı yüzük hücreli ve miks tiplerdir (4, 10).

Tablo 4: WHO'ya Göre Mide Kanserinin Histopatolojik Sınıflaması

Epitelyal	Epitelyal Olmayanlar
1) İnterapitelyal Neoplazi-Adenom	1) Leiomyom
2) Karsinom	2) Schwannom
-Adenokarsinom(difüz ve intestinal tip)	3) Granüler hücre tümörü
-Adenoskuamöz karsinom	4) Glomus tümörü
-Skvamöz hücreli karsinom	5) Leiomyosarkom
-Küçük hücreli karsinom	6) Gastrointestinal stromal tümörler
-İndiferansiye karsinom	7) Kaposi sarkomu
-Sınıflandırılmayanlar	8) Lenfomalar
3) Karsinoid (İyi diferansiye endokrin neoplaziler)	9) Diğer tipler
Sekonder neoplaziler (Metastazlar)	

Lauren sınıflamasında ise mide kanserleri intestinal ve diffüz tip olarak ikiye ayrılmıştır (76). İntestinal tip selüler yapısıyla tanınırken diffüz tip büyüme paterni ile tanımlanmaktadır. İntestinal tipin prognozu daha iyidir ve hastalık insidansının sık olduğu yerlerde yüksek oranda görülür. Patogenezinde H.pylori enfeksiyonları, kronik atrofik gastrit ve intestinal metaplazi gibi predispozan risk faktörleri rol alır (11). Yaşlılarda ve erkeklerde daha sıktır. Primer olarak midenin gövdesi ve antrum gibi distal kısmını tutar. Çevresel faktörler ve düşük sosyoekonomik düzeyle ilişkilidir, endemik bölgelerde intestinal tipe rastlanmaktadır. Diffüz tipin patogenezinde ise prekanseröz lezyonlar yer almazken endemik alanlarda sık görülür. Genellikle öncü lezyon olmadan gelişir ve çoğunluğunda müsinöz tipte malign hücre tabakaları vardır. Diffüz tip agresif seyirlidir ve E-cadherin kaybı ile ilişkili bulunmuştur (11, 59, 61, 77, 78). Daha çok mide proksimalinde ve daha genç yaşlarda ortaya çıkar. Kadınlarda daha sık görülen tiptir. Ailesel nedenlere bağlı (herediter mide kanseri, A kan grubu gibi) genetik faktörlerle daha çok ilişkilidir. Lenf nodu tutulumu ve evreden bağımsız olarak prognozu nispeten daha kötüdür (4, 11, 35).

Mide kanserleri komşu dokulara invazyon, lenfatik metastaz, peritoneal metastaz ve uzak metastaz yaparak yayılırlar. Bu yayılım yolları tümörün lokal invazyon yeteneği, lenfatik yayılımı ve hematojen yayılımı şeklinde olur (4, 79).

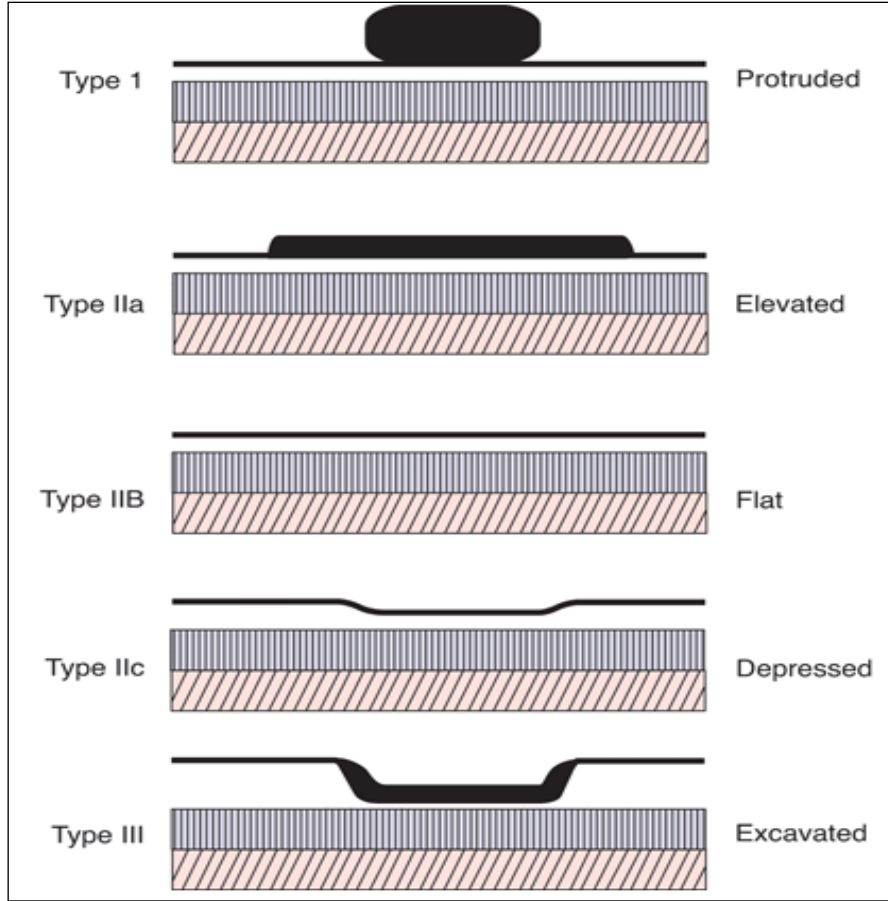
Mide kanserlerinde gastrik duvar derinliği, prognoz üzerine belirgin olarak etkilidir. Evre invazyon derinliğine göre değiştiğinden duvar derinliği arttıkça evre artacak ve prognozu olumsuz etkileyecektir (1, 5).

Erken mide kanseri perigastrik lenf nodu metastazı olup olmadığına bakılmaksızın mukoza ve submukozada sınırlı lezyon olarak tanımlanır. İlerlemiş mide kanseri ise submukoza altındaki muskularis mukozanın tutulduğu veya daha da ilerlediği neoplaziler olarak tanımlanmaktadır. Bu ayrımın evreleme ile ilişkisi bulunmamaktadır, sadece patolojik değerlendirme ile saptanır. Erken ve ileri mide kanserleri Borrmann tarafından makroskopik olarak klasifiye edilmiştir (4) (Tablo 5).

Borrmann sınıflandırmasına göre erken mide kanseri polipoid, yüzeyel ve ekskave olarak üç tipe ayrılır. Yüzeyel tip ise kendi içinde üçe ayrılır. İleri mide kanseri ise beş tipe ayrılmıştır. Bunlar: Polipoid, fungatif, ülser, infiltratif-diffüz ve linitis plastikadır (4).

Tablo 5: Erken ve İleri Mide Kanseri Borrmann Sınıflandırması (4)

<i>Erken Mide kanseri</i>	
Tip I	Polipoid tip, ekzofitik tip
Tip II	Yüzeyel tip, mukozada düzensiz görünüm oluşturan tip, 3 sub tipe ayrılır. Tip IIa: Eleve tip Tip IIb: Flat tip Tip IIc: Deplase tip
Tip III	Ekskave tip, ülser tip
<i>İleri Mide kanseri</i>	
Tip I	Polipoid tip
Tip II	Fungatif tip
Tip III	Ülser tip
Tip IV	İnfiltratif ve diffüz tip
Tip V	Linitis plastika (matara mide)



Şekil 5: Erken Mide Kanseri Borrmann Sınıflandırması

2.2.7 Mide Kanserinde Evreleme

Kanserde evreleme kavramı, tümörlerin uygun şekilde tanımlanmasını sağlamak, tedaviyi yönlendirmek, prognozu belirlemek ve standart çalışma protokolleri oluşturmak için önem kazanır.

Mide kanserinin prognozu kötüdür ve en önemli prognostik faktör evredir (1, 5). Evrelemede TNM evreleme sistemi kullanılır. AJCC evrelemesi TNM sınıflandırmasına uygun olarak yapılmıştır (4, 80) (Tablo 6-7). Mide kanserinin endemik görüldüğü bazı ülkelerde (Japonya gibi) farklı bir evreleme sistemi kullanılmaktadır (4, 81) (Tablo 8-9). Evre hastanın tedavisini belirlediğinden mide kanserlerinde geç evrede tanı almak tedavi seçeneklerini de kısıtlamaktadır. Evrelemede en önemli kriter tümörün mide duvarına ve komşu dokulara olan invazyon derinliğidir (4).

Tablo 6: Mide Kanserinde TNM Sınıflandırması (AJCC 2010)

I:TÜMÖR (T)	
T_x	Primer tümör değerlendirilememiştir.
T₀	Primer tümör bulunamamıştır.
T_{is}	Karsinoma in situ: lamina propriayı aşmayan intraepitelial tümör
T₁	Tümör lamina propriayı veya submukozayı tutar.
T₂	Tümör muskularis propriayı tutar.
T₃	Tümör subserozayı tutar ancak seroza ve komşu yapıları tutmaz.
T_{4a}	Tümör serozayı tutar.
T_{4b}	Tümör komşu yapılara invazedir.
II:LENF NODU (N)	
N_x	Bölgesel lenf bezleri değerlendirilememiştir.
N₀	Bölgesel lenf bezi tutulumu saptanmamıştır.
N₁	Bölgesel lenf bezlerinden 1-2'sinde metastatik tutulum vardır.
N₂	Bölgesel lenf bezlerinden 3-6'sında metastatik tutulum vardır.
N₃	Bölgesel lenf bezlerinde 7'den fazlasında metastatik tutulum vardır.
III:UZAK METASTAZ (M)	
M_x	Uzak metastaz değerlendirilememiştir.
M₀	Uzak metastaz yoktur.
M₁	Uzak metastaz vardır.

Mide kanseri erken evrelerde asemptomatik olduğundan tanı geç konur ve hastaların büyük bir kısmı ileri evrede tanı alır. Tanı sonrası tedaviyi belirleyen ve en önemli prognostik faktörlerden biri olan evre için bazı tetkiklere gerek vardır. Endoskopi ve biyopsi alma sırasında yapılabilecek endosonografi evrelemeye yardımcı olabilir. Ayrıca abdomen ve toraks tomografi (BT) evreleme açısından özellikle karaciğer ve akciğer gibi uzak metastazların saptanmasında yardımcı olur. Pozitron emisyon tomografisi (PET) de kullanılabilecek evreleme tetkiklerinden biridir. Ayrıca PET tedavi sonrası takip ve tedaviye yanıt açısından da anlamlı katkı sağlamaktadır (4).

Tablo 7: Mide Kanserinde TNM Evrelemesi (AJCC 2010)

Evre 0	$T_{is} N_0 M_0$
Evre IA	$T_1 N_0 M_0$
Evre IB	$T_2 N_0 M_0$ $T_1 N_1 M_0$
Evre IIA	$T_3 N_0 M_0$ $T_2 N_1 M_0$ $T_1 N_2 M_0$
Evre IIB	$T_{4a} N_0 M_0$ $T_3 N_1 M_0$ $T_2 N_2 M_0$ $T_1 N_3 M_0$
Evre IIIA	$T_{4a} N_1 M_0$ $T_3 N_2 M_0$ $T_2 N_3 M_0$
Evre IIIB	$T_{4b} N_0 M_0$ $T_{4b} N_1 M_0$ $T_{4a} N_2 M_0$ $T_3 N_3 M_0$
Evre IIIC	$T_{4b} N_2 M_0$ $T_{4b} N_3 M_0$ $T_{4a} N_3 M_0$
Evre IV	$T_{1-4} N_{0-3} M_1$

Tablo 8: Mide Kanserinde Japon Sınıflandırması (4,81)

Tümör (T)	
T₁	Tümör mukoza, muskularis mukoza ya da submukozayı tutar.
T₂	Tümör muskularis propria ya da subserozayı tutar.
T₃	Tümör serozaya penetredir.
T₄	Tümör komşu yapılara invazedir.
T_x	Primer tümör değerlendirilememiştir.
Nodal Tutulum(N)	
N₀	Bölgesel lenf bezi tutulumu saptanmamıştır.
N₁	Sadece grup 1 lenf nodu metastazı vardır.
N₂	Grup 2 lenf nodu metastazı vardır (grup 3 tutulmamıştır).
N₃	Grup 3 lenf nodu metastazı vardır.
N_x	Bölgesel lenf bezleri değerlendirilememiştir.
Hepatik Metastaz (H)	
H₀	Karaciğer metastazı yoktur.
H₁	Karaciğer metastazı vardır.
H_x	Karaciğer metastazı değerlendirilememiştir.
Peritoneal Metastaz (P)	
P₀	Periton metastazı yoktur
P₁	Periton metastazı vardır.
P_x	Periton metastazı değerlendirilememiştir.
Peritoneal Sitoloji (CY)	
CY₀	Peritoneal sitoloji metastazı yoktur.
CY₁	Peritoneal sitoloji metastazı vardır.
CY_x	Peritoneal sitoloji metastazı değerlendirilememiştir.
Diğer Uzak Metastaz (M)	
M₀	Uzak metastaz yoktur (karaciğer, periton, sitoloji hariç).
M₁	Uzak metastaz vardır (karaciğer, periton, sitoloji hariç).
M_x	Uzak metastaz değerlendirilememiştir.

Tablo 9: Mide Kanserinde Japon Evrelemesi (4,81)

EVRE GRUPLAMA (japon evrelemesi)				
	N₀	N₁	N₂	N₃
T₁	IA	IB	II	IV
T₂	IB	II	IIIA	
T₃	II	IIIA	IIIB	
T₄	IIIA	IIIB	IV	
H₁,P₁,CY₁,M₁	IV			

2.2.8 Mide Kanserinde Tedavi

Asemptomatik olduğu için geç tanı alan mide kanseri hastaları tanı anında ileri evrededir. Daha önce de bahsedildiği gibi mide kanserinin prognozu kötüdür ve en önemli prognostik faktör evredir (1, 4, 5). Evre hastanın tedavisini belirlediğinden mide kanserlerinde geç evrede tanı almak tedavi seçeneklerini de kısıtlamaktadır. Evreye göre değişmekle birlikte neoadjuvan kemoterapi sonrası cerrahi, sadece cerrahi, cerrahi sonrası kemoradyoterapi, cerrahi sonrası kemoterapi veya sadece kemoterapi uygulanan tedavi yöntemleridir (4).

2.2.8.1 Cerrahi Tedavi

Mide kanseri tanısı almış hastalarda cerrahi tedavide uygulanan yöntem radikal subtotal ve radikal total gastrektomi ile birlikte lenf nodu diseksiyonudur. Tümör çapı ve derinliği arttıkça lenf nodu tutulumu artacağından yeterli sayıda lenf nodu diseksiyonu tüm evrelerde uygulanmalıdır (4, 82-87).

Evre I mide kanseri hastalarında küratif tedavi cerrahidir. Radikal mide cerrahisi sırasında lenfadenektomi yapılması şarttır. En az 15 adet lenf nodu çıkarılması gerekir. Lezyon distal yerleşimli ise distal subtotal gastrektomi ve total gastrektomi ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar vermektedir, prognozları benzerdir. Lezyon kardiyayı içeriyorsa distal özofajektomi ile birlikte proksimal subtotal gastrektomi ya da total gastrektomi uygulanmalıdır. Korpusu tutan evre I tümörlerde total gastrektomi yapılmalıdır ve lokalizasyon ne olursa olsun tüm evre I mide kanserlerinde lenfadenektomi yapılmalıdır. Splenektomi rutinde uygulanmamaktadır (4, 82-87).

Evre II-III mide kanserlerinde standart tedavi gastrektomi, lenfadenektomi ve adjuvan kemoterapidir. Evre II mide kanseri tanılı hastalarda distal lezyonlarda distal subtotal gastrektomi ve total gastrektominin sonuçları benzerdir. Lezyon kardiyayı içeriyorsa distal özofajektomi ile birlikte proksimal subtotal gastrektomi ya da total gastrektomi uygulanmalıdır. Korpusu tutan evre II tümörlerde total gastrektomi yapılmalıdır ve lokalizasyon ne olursa olsun tüm evre II mide kanserlerinde lenfadenektomi yapılmalıdır. En az 15 lenf nodu diseksiyonu gerekirken, yapılan bazı çalışmalarda evre II ve IIIa mide kanserlerinde çıkarılan lenf nodu sayısı azaldıkça gerçek evreyi belirlemenin zorlaştığı saptanmış ve en az 25 lenf nodunun çıkarılması önerilmiştir. Çıkarılan lenf nodu sayısı arttıkça hem doğru evreleme hem de yeterli tedavi sağlanmış olmaktadır. Splenektomi rutinde uygulanmamakla birlikte perisplenik lenf nodu tutulumu ve direkt dalak tutulumunda önerilmektedir (4, 79, 88-93).

Evre III mide kanserinde radikal operasyon rezektabl olan hastalarda yapılmalıdır. En az 15 lenf nodu çıkarılması önerilirken evre IIIb altındaki tüm evrelerde en az 25 lenf nodu diseksiyonu önerilir. Ayrıca evre III olan ve unrezektabl kabul edilen hastalarda palyatif rezeksiyon için değerlendirme yapılmalıdır, neoadjuvan kemoterapi sonrası cerrahi açıdan değerlendirme önerilebilir (4, 79, 90, 94).

Evre IV olup komşu doku invazyonu bulunan hastalarda total gastrektomi ve ilave organ rezeksiyonu uygulanabilir. Rezeke edilemeyen seçilmiş hastalarda ise neoadjuvan kemoterapi veya kemoradyoterapi sonrası cerrahi tedavi uygulanabilir. Evre IV uzak metastazlı ya da yaygın lenf nodu tutulumu olan hastalarda cerrahi sadece palyasyon ve pasaj sorunlarını engelleme veya obtrüksiyon sonrası uygulanmaktadır. Palyasyon için total gastrektomi, intestinal bypass, gatrojejunostomi uygulanabilir. Nadiren lokalize karaciğer metastazlı evre IV hastalara lobektomi ile birlikte total gastrektomi uygulanabilmektedir (4, 79, 93-96).

Mide kanseri hastalarında standart olarak omentektomi uygulanmasa da operasyon sırasında yayılım şüphesi olanlara uygulanmaktadır. Omentektominin rutin olarak uygulanmaması periton metastazını önemli ölçüde arttırmaktadır. Cerrahideki en önemli unsurlardan biri de negatif cerrahi sınırın elde edilmesidir, çünkü pozitif cerrahi sınır reeksiyonu gerektirebilmektedir (4, 95).

2.2.8.2 Kemoterapi

Mide kanseri tanısı geç ve ileri evrelerde konduğu için hastaların çoğu unrezektabl kabul edilir. Bu yüzden tedavide sistemik kemoterapatik ajanlar kullanılır. Bunlar: Antrasiklinler, platinum bileşikleri, florourasil, taksanlar ve irinotekan gibi ajanlardır (1, 4, 97-99).

Evre I mide kanserlerinde lenf nodu yayılımı (T₁N₁M₀) olan ya da yetersiz lenf nodu diseksiyonu yapılan hastalara kemoterapi, cerrahi sınır pozitifliği olanlara kemoradyoterapi uygulanmalıdır (4).

Evre II mide kanserinde postoperatif dönemde kemoradyoterapi önerilmektedir.

Evre III mide kanserlerinde ise seçilmiş hastalarda neoadjuvan kemoterapi ya da kemoradyoterapi sonrası cerrahi veya adjuvan kemoterapi uygulanır. Adjuvan tedavi kemoterapi ajanları florourasil ve lökovorinle birlikte radyoterapidir (4). Erken evreler mide kanserinde cerrahi sonrası kemoterapi uygulamasının sadece cerrahiye oranla sağkalım üzerine olumlu katkıları olduğu gösterilmiştir (100).

Evre IV seçilmiş hastalarda neoadjuvan kemoterapi ya da kemoradyoterapi sonrası cerrahi veya adjuvan kemoterapi uygulanır. Opere edilen hastalara (radikal total gastrektomi ve ilave organ rezeksiyonu) postoperatif dönemde kemoradyoterapi önerilmektedir (4).

Kemoterapi protokollerinde özellikle cisplatin ve florourasilli kombine rejimler önerilir. Bu rejimlerin tekli ajan kemoterapilere üstünlüğü gösterilmiştir. Bu rejimler;

Epirubisin + Cisplatin + Florourasil içeren ECF protokolu,

Florourasil + Doksorubisin + Cisplatin içeren FAP protokolu,

Cisplatin + Epidoksorubisin + Lökovorin ve Florourasil içeren PELF protokolu ve taksanlı rejimler Paklitaksel/Docitaksel + Cisplatin + Florourasil içeren TCF protokoludur (4, 98, 101, 102).

Ayrıca Florourasil + Doksorubisin + Mitomisin C veya Metotreksat içeren FAM protokolleri de vardır (4).

Palyatif sistemik kemoterapi ajanları ise: Cisplatin+ Capecitabin, Carboplatin+ Florourasil, Cisplatin+İrinotekan gibi ajanlardır (4).

Hedefe yönelik tedaviler ise tüm kanserlerde olduğu gibi mide kanserinde de yeni ajanların kullanımı için yapılan çalışmalara yol açmıştır. Mide kanserinde çalışılan genlerden biri olan Her2 aşırı ekspresyonu ve amplifikasyonu saptanırsa protokollere eklenen Transtuzumab gibi ajanlarla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Mide kanserinde yapılan çalışmalarda ortalama % 18 (% 8,5-32) civarı Her2 pozitifliği saptanmıştır (1, 34). ToGA adlı faz III çalışmada randomize olarak ayrılan kollarda Cisplatin + Florourasil ya da Cisplatin + Capesitabine ek olarak Her2'ye karşı geliştirilmiş monoklonal antikor olan Transtuzumab kullanılmıştır (4, 13, 22, 31-34).

2.2.8.3 Radyoterapi

Mide kanserlerinde radyoterapinin yeri tartışmalıdır. Palyatif amaçlı kitleye veya basıya bağlı ağrı varsa, metastatik odaklara komplikasyonu azaltma amaçlı kullanılabilir (4).

Kullanıldığı diğer durumlar ise: Evre I mide kanserlerinde lenf nodu yayılımı (T₁N₁M₀) olan, yetersiz lenf nodu diseksiyonu yapılan ya da cerrahi sınır pozitifliği olanlara, Evre II mide kanserinde postoperatif dönemde, Evre III mide kanserlerinde seçilmiş hastalarda neoadjuvan veya adjuvan kemoradyoterapi uygulanır. Evre IV hastalarda ise uzak metastazı olmayan seçilmiş hastalarda neoadjuvan kemoradyoterapi uygulanırken opere edilmiş hastalara (radikal total gastrektomi ve ilave organ rezeksiyonu) postoperatif dönemde kemoradyoterapi önerilmektedir (4).

Görüldüğü gibi tedavi amaçlı kemoradyoterapi birçok evrede uygulanmaktadır.

2.2.9 Mide Kanserinde Prognostik Faktörler

Mide kanserleri yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren tedavi oranlarında artışa rağmen hala kansere bağlı mortalitede önemli nedenlerden biridir. Tanıda gecikme, lokal veya sistemik nüksler ve tanı anındaki evre en önemli prognostik faktörlerdir. Diferansiyasyon derecesi, lezyonun mide duvarındaki derinliği, lenfatik ve vasküler invazyon da prognostik faktörler arasında yer alır. Erken mide kanserlerinde 5 yıllık yaşam süresi % 25-40 arasındayken tüm mide kanserlerinde bu oran % 10'un altındadır (3, 4, 35). Metastatik hastalarda ise % 5-10 civarında olup ortalama yaşam süresi 1 yıldan azdır (100).

Prognostik faktörlerden hastaya ait olan yaş faktörü mide kanserinin 55 yaş üzerinde sık görülmesinden kaynaklanır. Gençlerde de yaşam süresinde artış olmaması erken evrede kliniğin asemptomatik olmasına bağlı tanının geç evrede konmasından kaynaklanmaktadır.

Lezyonun lokalizasyonu en sık antrumdadır ve pilor obstruksiyonu gibi klinik semptomlara bağlı daha erken tanı alırken proksimal bölge tümörleri çoğunlukla ileri evrede tanı alırlar. Genetik faktörler de mide kanserlerinde prognozu etkilerler. Onkogen aktivasyonu ve TSG inaktivasyonunun mide kanserleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Onkogenlerden Her2, K-ras, met gibi onkogenlerin değişik oranlarda ekspresyonu saptanmıştır. Bunlar arasında Her2 ekspresyonunun tümörün büyüklüğu, lenfatik - hematojen yollarla yayılımı ve küratif cerrahi sonrası kısa yaşam süresi ile ilişkisi gösterilmiştir (11, 12, 14, 103, 104). TSG'lerden ise p53, APC, ve E-cadherin gibi genlerin mide kanserinin gelişimi ve metastazı ile ilişkisi olduğu bilinmektedir (11, 12).

Tedaviye bağlı bazı prognostik faktörler de bulunmaktadır. Cerrahi tedaviyle ilişkili rezeksiyon tipinin uygunluğu, lenf nodu diseksiyonunun yeterliliği, cerrahi sınır ve verilen kemoterapinin etkinliği tedaviyle ilişkili prognostik faktörlerdir (88, 89).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu'ndan 13.03.2012 tarihinde 13.03.2012/115 karar no'lu etik kurul onayı alındıktan sonra 2012 yılı boyunca Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Gastroenteroloji Polikliniği'ne başvurmuş ya da dış merkezden endoskopi amaçlı sevk edilmiş Gaziantep Üniversitesi Endoskopi Ünitesi'nde endoskopi işlemi uygulanan 50 hasta dahil edildi. Gönüllü kişiler bilgilendirilmiş onam formları okutulup imzalandıktan sonra çalışmaya alındı. Prospektif olarak yapılan bu çalışma için seçilen hastaların endoskopi işlemlerinde peptik ülser ya da tümöral oluşum saptanması halinde patolojik değerlendirme amaçlı alınan biyopsiye ek olarak Her2/neu gen analizi için hastaların onamları alınarak hem tümöral mide dokusu hem de normal mide dokusundan biyopsiler alındı.

3.2. Klinik Tanı ve Veri Toplanması İçin Yapılan İşlemler

Hastalar hazırlanmış standart bir protokole uygun olarak değerlendirildi. Gaziantep Üniversitesi Endoskopi Ünitesi'nde endoskopi işlemi uygulanarak mide kanseri şüphesi olan hastalardan onamları alındıktan sonra biyopsiler alındı. Hastaların yaşları, cinsiyetleri, başvuru şikayetleri, daha önce bilinen mide hastalıkları ile ilgili tedavi alıp almadıkları anamnezleriyle değerlendirildi. Endoskopi işlemi ile lokalizasyon tespiti yapıldı. Değerlendirmeye alınan tüm hastaların fizik muayeneleri yapıp demografik özellikleri ve aile öyküsü sorgulandı. Rutin laboratuvar değerleri çalışılan ve patolojik değerlendirme sonucunda mide kanseri tanısı alan hastaların tümör belirteçleri olan Ca 19-9 ve CEA düzeyi çalışıldı. Hastaların evrelerini belirlemek üzere patolojik değerlendirme (histolojik tip, diferansiyasyon, invazyon, lenf nodu tutulumunu saptamak için) ile görüntüleme yöntemlerinden abdomen ve toraks tomografileri (uzak metastaz ve yayılımı saptamak için) kullanıldı. Erken mide kanseri ya da rezektabel olan ileri mide kanseri hastalarımızda uygulanan cerrahi işlemi sonrası araştırmamızın patolojik değerlendirilmesi Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı'nda yapıldı ve mide kanseri tanısı alan

hastaların doku numunelerinden immunohistokimyasal boyamalarla Her2 pozitifliğine bakıldı.

Mide kanseri tanısı patolojik sonuçlarla raporlandırılan hastaların alınan hem tümöral hem de normal mide doku örneklerinden Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı'nda RNA izolasyonu sonrası Real - Time PCR yöntemiyle Her2/neu gen ekspresyonu araştırıldı.

3.3. İmmunohistokimyasal Değerlendirme

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirilerek mide adenokarsinomu tanısı ile raporlandırılan olgular prospektif olarak araştırmaya alındı. Her2'ye karşı geliştirilen antikorların kullanılarak yapılacak bu immunohistokimyasal çalışma için formalinle fiske edilmiş uygun parafin bloklarından mikrotom ile 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler etüvde 60 santigrat derecede ısıtıldıktan sonra ksilol solüsyonları ile deparafinize edildi. İmmünperoksidaz yöntemi ile Leica Bond Max tam otomatik boyama cihazı (Leica biyosistem, USA) kullanılarak immünohistokimyasal boyama, sonrasında DAB kromojen kullanılarak renklendirme yapıldı. Daha sonra primer tavşan monoklonal Her2 antikoru (1: 100) kullanılıp ışık mikroskobisi ile incelenen yaygın saha boyaması olan preparatlar değerlendirmeye alındı. Skorlamada boyanma yüzdesi ve yoğunluğu; hiç boyanmama (-), hafif boyanma 1(+), orta boyanma 2+, kuvvetli boyanma 3+ olarak değerlendirildi (Tablo 10). Hiç boyanma olmayanlar negatif, 3+ boyananlar pozitif kabul edildi. 1+ ve 2+ olanlar ise FISH ile tekrar değerlendirildi (34).

Tablo 10: Mide Kanserinde IHC Skorlama Sistemi

MEMBRAN BOYANMA PATERNİ	SONUÇ	EK DEĞERLENDİRME
Boyanma reaktivitesi yok	Negatif	Gerekmez
Hafif ya da belli-belirsiz membranöz boyanma	Negatif	Gerekmez
Orta derecede bazolateral ya da lateral membranöz boyanma	Şüpheli	ISH Korelasyon Önerilir
Güçlü bazolateral ya da lateral membranöz boyanma	Pozitif	Gerekmez

3.4. RNA İzolasyonu

Endoskopi işlemiyle alınan tümöral ve normal doku örneklerinin konuldukları tüpler azot tankı içinde bekletilerek Tıbbi Genetik Laboratuvarı'na gönderildi. Sıvı azot içerisinden alınan örnekler parçalayıcı (homojenizatör) (Kinematica, Gmdh, Switzerland) ile 25 mg'lık parçalara ayrıldı. Homojenizatör her kullanımdan sonra, bulaşmayı önlemek için doku örneği kalmayacak şekilde temizlendi. QIAamp RNA Blood Mini Kit (Qiagen, Cat. No. 52304) aracılığıyla üretici firmanın önerdiği yöntem ile RNA'lar da elde edildi. Dondurulmuş dokudan elde edilen 25 mg'lık doku püresi 1,5 ml'lik bir tüpe alındı ve üzerine 400 µl Çözme/Bağlama Tamponu (Lysis/Binding Buffer) (4,5 M guanidine- HCL, 100 mM sodium phosphate pH 6,6) eklendi. 2 dakika 13.000xg'de santrifüj edildi. Santrifüj aşamasından sonra üstteki sıvı alınarak üzerine 200 µl etanol eklendi ve iyice karıştırıldı. Örnekler filtre tüp üzerine konuldu ve 30 saniye 13.000xg'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında filtre tüp üzerine 90 µl DNase Incubation Buffer (1 M NaCl, 20 mM Tris-HCl, 10 mM MnCl₂, pH 7.0) ve 10 µl DNase I ile hazırlanan çözelti eklendi ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 500 µl Yıkama Tamponu I (Wash Buffer I) (5 M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl, pH 6,6) filtre tüpü üzerine konuldu ve 15 saniye 8.000xg'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası filtre tüpü üzerine 500 µl Yıkama Tamponu II (Wash Buffer II) (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5) eklenerek 15 saniye 8000xg'de santrifüj edildi.

Daha sonra 300 µl yıkama Tamponu II (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5)'den eklendi ve 13.000xg'de 2 dakika santrifüj edildi. Filtre tüpü 1,5 ml'lik steril bir tüple birleştirildi ve filtre tüpü üzerine 100 µl Süzme Tamponu (Nuclease-free, sterile, double distilled water) eklendi. 1 dakika 8.000xg'de santrifüjden sonra RNA'lar filtre tüpten alınmış oldu ve -85 C'de saklandı.

3.5. cDNA Sentezi

Yapılan bu çalışmada cDNA'lar İpsogen Reverse Transcription- Dx Kit (Lot no: 11-11-11) kullanılarak sentezlendi. PCR koşulları ve PCR karışımı, kullanılan Kit'de belirtildiği şekilde yapıldı. RNA'ların nanodropta ölçümleri yapılarak gerekli miktarlar alındı. Toplam hacim 10 µl olacak şekilde üzerlerine su eklendi ve RNA-su karışımı 65 °C de 5 dakika inkübe edildi. 50 tümöral ve 50 normal doku olmak üzere toplam 100 örnek için aşağıdaki karışım hazırlandı.

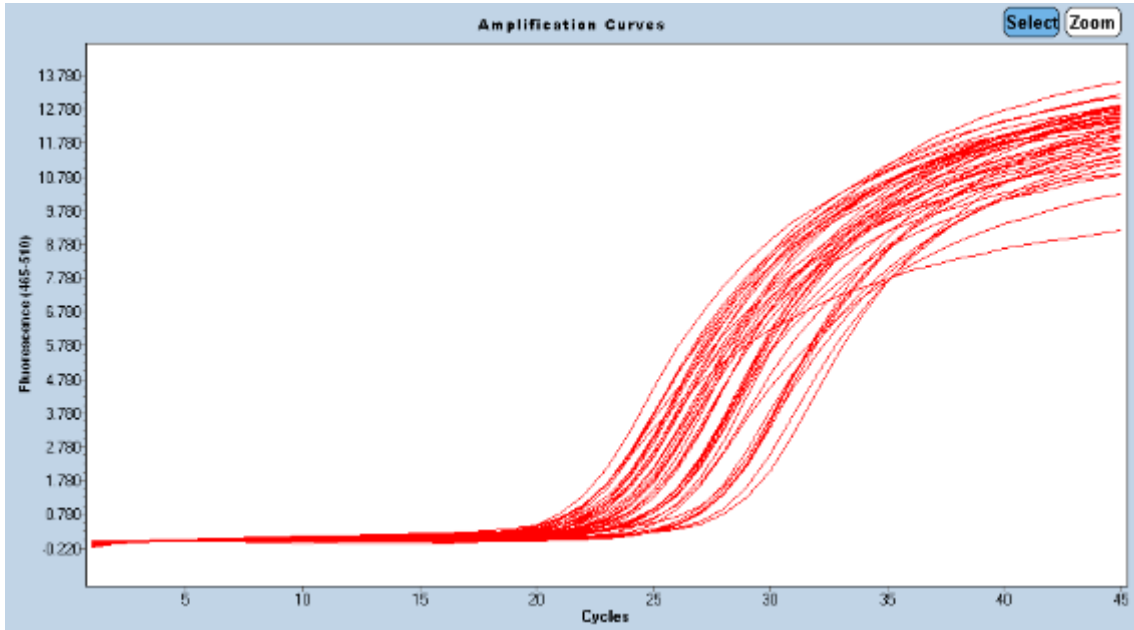
Tablo 11: cDNA Sentezi İçin Hazırlanan Karışım

5x Buffer	5 µl
dNTP	2 µl
Random primer	5.25 µl
DTT	1.25µl
Reverse transkriptase	1 µl
Rnase Inhibitor	0.5µl
TOPLAM	15 µl

Hazırlanan karışımdan 15 µl alındı ve RNA-su karışımlarının üzerlerine dağıtılarak 42 °C’de 60 dakika, 85 °C’de 5 dakika olacak şekilde AB Applied Biosystems Veriti 96-Well Thermal Cycler PCR cihazı ayarlanarak PCR’ı gerçekleştirildi.

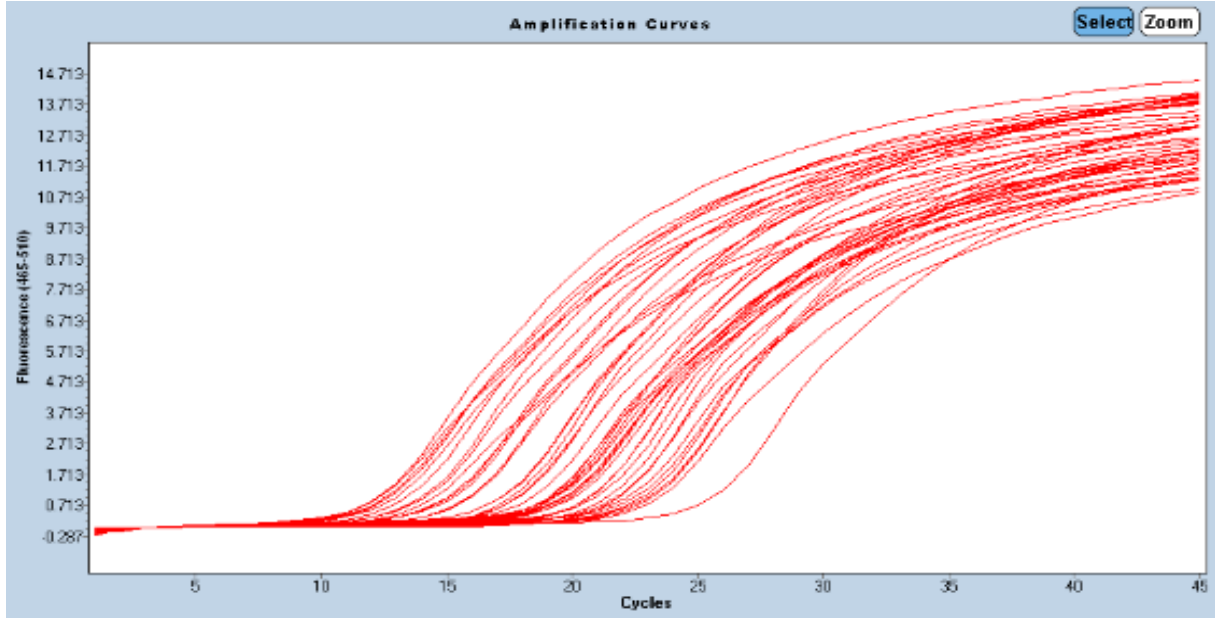
3.5. Real Time – PCR

Real Time - PCR ile Her2 gen ifadesinin tespiti: Qiagen primer set (lot no. 20120710325) kullanılarak Her2 gen bölgesi çalışıldı.



Şekil 6: Real Time - PCR ile Her2 Gen İfadesinin Tespiti

Real Time PCR ACTB ifadesinin tespiti: Housekeeping gen olarak ACTB (RefSeq Accession no : NM_001101.3) (lot no.20120827013) kullanıldı.



Şekil 7: Real Time - PCR ile ACTB Gen İfadesinin Tespiti

Her2 ve ACTB karşılaştırılmak üzere toplam 100 örnek için aşağıdaki karışım hazırlandı.

Tablo 12: Real Time - PCR İçin Hazırlanan Karışım

	Her2 karışımı	ACTB karışımı
2X RT ² Real-Time SYBRGreen PCR Master Mix	12.5 µl	12.5 µl
Primer	1 µl	1 µl
Rnase- free water	11.5 µl	11.5 µl
TOPLAM	24.5 µl	24.5 µl

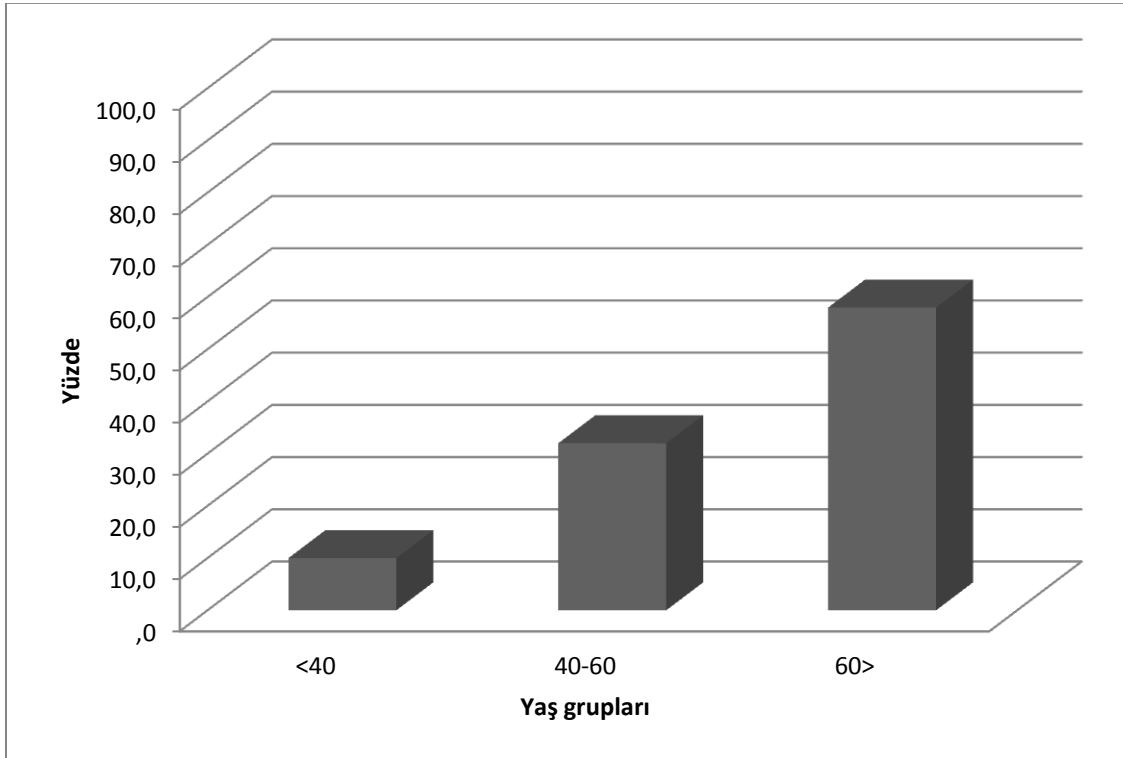
Hazırlanan her bir karışımdan her hasta için 24 µl alındı ve 96'lık plate dağıtıldı üzerine 1 µl 50 ng' a dilüe edilmiş cDNA ilave edildi. Light Cycler 480 II (Roche) Real Time cihazı kullanılarak PCR yapıldı. 95 °C'de 10 dak, 40 siklus 15 sn. 95 °C, 60 sn 60 °C PCR şartlarına tabi tutuldu.

3.6. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS for Windows version 15.0 paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluk kontrolünde Kolmogorov Smirnov testi kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip değişkenlerin 2 bağımsız grup karşılaştırılmasında Student t-testi, normal dağılıma sahip olmayan değişkenler için Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişki ki-kare analizi ile test edilmiştir. Tanıtıcı istatistik olarak frekans, yüzde ve ortalama \pm standart sapma değerleri verilmiştir. $P < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Farklı parametreler arasındaki korelasyonun araştırılmasında Pearson Korelasyon Analizi kullanıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı Polikliniği'ne başvuran ve endoskopik işlem sonucu mide kanseri tanısı alan 50 hasta dahil edildi. Hastalarımızın 34'ü (% 68) erkek, 16'sı (% 32) kadındı. Erkek/Kadın oranı 2,1/1 idi. Hastalarımızın yaşı 29-88 arasında olup ortalama yaş $60,22 \pm 14,7$ idi. Yaş dağılım grafiği şekil 8'de verilmiştir.



Şekil 8: Hasta Grubunun Yaş Dağılımı

Çalışmaya alınan 50 hastamızdan 28'inin (% 56) daha önceden mide şikayeti nedeni başvurduğu ve gastrit, peptik ülser, gastroözofajiyal reflü hastalığı gibi öykülerinin olduğu öğrenildi. Tedavi olarak PPI kullanan 16 erkek, 3 bayan olmak üzere toplam 19 hasta (% 38) vardı. Ek ilaç kullanan hastalardan ASA ve/veya NSAID kullanan hasta sayısı 39 (% 78) idi. Bu hastalardan toplamda 4'ünde GIS kanama öyküsü olduğu öğrenildi (Tablo 13).

Tablo 13: Hasta Grubunun Sosyo-Demografik Özellikleri

	Erkek (n=34)	Kadın (n=16)
Yaş Ortalaması (yıl)	61,38 ± 11,47	57,75 ± 20,17
Hasta Yüzdesi	% 68	% 32
Bilinen Mide Hastalığı	20	8
PPI Kullanım Öyküsü	16	3
ASA veya NSAID Kullanım Öyküsü	29	10
GIS Kanama Öyküsü	4	0
Ailede Kanser Öyküsü	19	9
Ailede Mide Kanseri Öyküsü	0	3

Ailesinde kanser öyküsü olan 28 (% 56) hastamız vardı. Ailede mide kanseri öyküsü olan 3 hastamız vardı ve hepsi de bayandı. Bu bilgiler tablo 13’de sunulmuştur.

Hastalarımızın 28 (% 56) ’inde ek hastalık bulunmaktaydı ve bu hastaların hepsi ek ilaç kullanmaktaydı. 4 hastada (% 8) sadece hipertansiyon, 5 hastada (% 10) kalp hastalığı, 10 hastada (% 20) diyabet ve yine 3 hastamızda (% 6) kanser öyküsü saptandı. Hastalarımızın kullandıkları ilaçların arasında ilk sırayı alan 39 hastamızın (% 78) kullandığı ASA ve NSAID oldu. İkinci sırada ise PPI’lar gelmekteydi. Bu bilgiler tablo 14’te sunulmuştur.

Tablo 14: Hastaların Klinik Durumları ve Kullandıkları İlaçlar

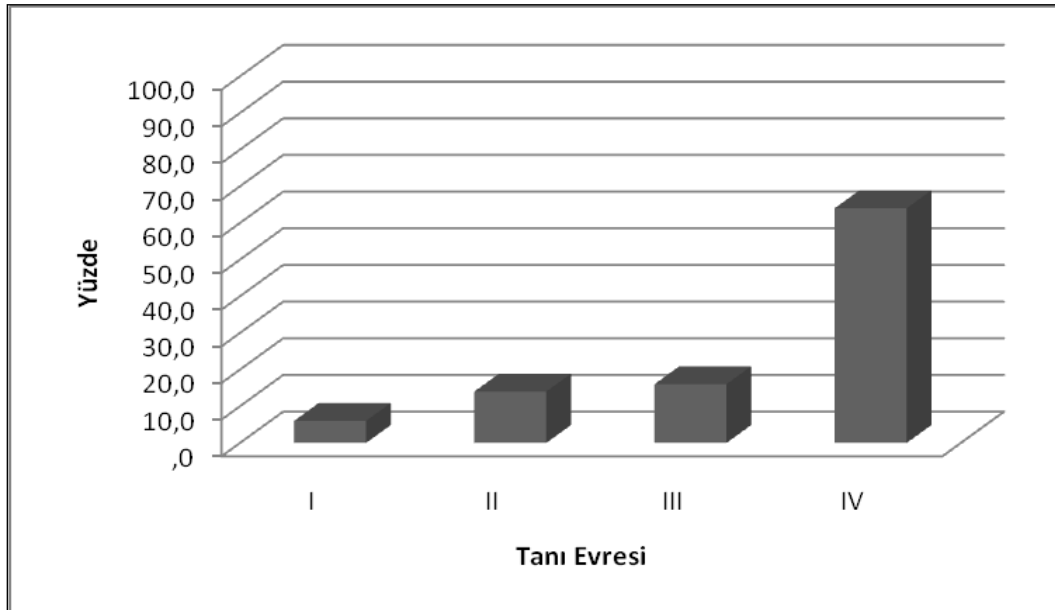
	Hasta Sayısı	%
Mide Hastalığı Dışında Ek Hastalık		
Yok	22	44
Hipertansiyon	4	8
Diyabet	10	20
Kalp Hastalığı	5	10
Malign Hastalık	3	6
Diğer Hastalıklar	6	12

İlaç Kullanımı		
Yok	5	10
ASA/NSAID	39	78
PPI	19	38
H2 Reseptör Antagonisti	9	18
Antihipertansif İlaç	11	22
Antidiyabetik Tedavi	10	20
Diğer İlaçlar	9	18

Sigara içen hasta sayımız 33 (% 66), alkol kullanan hasta sayımız 7 (% 14), hem alkol hem de sigara kullanan hasta sayımız da 7 (% 14) idi. Yani alkol alan hastalarımızın hepsi sigara kullanmaktaydı.

Mide adenokarsinomu tanıılı 50 hastamızın 17'si (% 34) taşlı yüzük hücreli tip, 3'ü (% 6) miks tip, geriye kalan 30'u ise (% 60) adenokarsinomun diğer tiplerinden oluşmaktaydı.

Hastaların mide kanseri tanısı konulduktan sonra evrelemeleri yapıldı ve 3 kişi (% 6) evre 1, 7 kişi (% 14) evre 2, 8 kişi (% 16) evre 3, 32 kişi ise (% 64) evre 4 olarak evrelendirildi (Şekil 9). Lenf nodu tutulumu olmayan 6 (% 12), lenf nodu metastazı olan 44 (% 88) hastamız vardı .



Şekil 9: Hastaların Tanıdaki Mide Kanseri Evreleri

Tüm hastalarımızın bakılan CEA ve Ca 19-9 düzeyleri değerlendirildiğinde; CEA'nin yüksek olduğu hasta sayısı 22 idi ve aşikar yükseklik (normalin 2 katından daha fazla) 17 (% 34) hastada saptandı. Ca 19-9 düzeyi yüksek olan 15 (% 30) hastamız bulunmaktaydı. Evrelere göre bu yükseklikler değerlendirildi.

Evre I olan 3 hastamızda tümör belirteç yüksekliği saptanmadı. Evre II olan 7 hastamızın 1'inde (% 4,5) CEA, 2'sinde (% 13,3) Ca 19-9 yüksekliği vardı. Evre III hastalardan 2'sinde CEA yüksekken Ca 19-9 yüksek olan hastamız yoktu. Evre IV olan 32 hastamızdan ise 19'unda (% 86,4) CEA, 13'ünde (% 86,7) Ca 19-9 yüksekliği saptandı (Tablo 15 ve 16). Tümör belirteç yükseklikleri ile evre arasında anlamlı bir ilişki saptandı (p=0.014, p=0.024).

Tablo 15: Evrelere Göre CEA Düzeylerinin Karşılaştırılması

	CEA Yüksekliği	Toplam Hasta Sayısı	Ortalama Değer	p değeri
Evre I	0 (% 0)	3 (% 6)	1,02 ± 0,49	0.014
Evre II	1 (% 4,5)	7 (% 14)	2,87 ± 3,25	
Evre III	2 (% 9,1)	8 (% 16)	3,04 ± 2,53	
Evre IV	19 (% 86,4)	32 (% 64)	37,83 ± 57,4	
Toplam	22 (% 100)	50 (% 100)	25,16 ± 48,7	

Tablo 16: Evrelere Göre Ca 19-9 Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Ca 19-9 Yüksekliği	Toplam Hasta Sayısı	Ortalama Değer	p değeri
Evre I	0 (% 0)	3 (% 6)	5,39 ± 2,57	0.024
Evre II	2 (% 13,3)	7 (% 14)	22,4 ± 29,43	
Evre III	0 (% 0)	8 (% 16)	5,20 ± 3,17	
Evre IV	13 (% 86,7)	32 (% 64)	299,15 ± 540,17	
Toplam	15 (% 100)	50 (% 100)	195,76 ± 451,80	

CEA ve Ca 19-9 birlikte değerlendirildiğinde; evre II olan 1 (% 7,7) hastamızda ve evre IV olan 12 (% 92,3) hastamızda iki tümör belirtecinde birlikte yükseklik görüldü (Tablo 17). İki tümör belirtecinin birlikte yüksekliği ile evre arasında da anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0.026$).

Tablo 17: Evrelere Göre CEA ve Ca 19-9 Birlikte Yüksekliği

	CEA ve Ca19-9 Birlikte Yüksekliği	Toplam Hasta Sayısı	p değeri
Evre I	0 (% 0)	3 (% 6)	0.026
Evre II	1 (% 7,7)	7 (% 14)	
Evre III	0 (% 0)	8 (% 16)	
Evre IV	12 (% 92,3)	32 (% 64)	
Toplam	13 (% 100)	50 (% 100)	

Metastaza göre değerlendirme yapıldığında CEA ve Ca 19-9 birlikte yüksekliği Evre IV olmayan sadece 1 hastamızda saptandı. Evre IV hastaların ise 12'sinde (% 92,3) iki tümör belirteç yüksekliği vardı (Tablo 18). Metastaz ile tümör belirteçleri yüksekliği arasında anlamlı bir ilişki olduğu görüldü ($p=0.007$).

Tablo 18: Metastaza Göre CEA ve Ca 19-9 Birlikte Yüksekliği

	CEA ve Ca19-9 Birlikte Yüksekliği	Toplam Hasta Sayısı	p değeri
Metastaz olmayan evreler	1	18	0.007
Metastatik evre	12	32	
Toplam	13	50	

Hastaların patolojik değerlendirmeye mide kanseri tanısı konduktan sonra yapılan IHC değerlendirmelerinde Her2 1+ saptanan hasta sayısı 3 (% 6), 2+ saptanan hasta sayısı 1 (% 2), 3+ saptanan hasta sayısı ise 5 (% 10) olarak bulundu. Geriye kalan 41 hastada Her2 negatif. 1+ ve 2+ saptanan hastalarımız Silver in situ hibridizasyon (SISH) ile değerlendirildi ve negatif oldukları görüldü. IHC alışma sonucunda 3+ olan hastalar SISH ile korelasyon yapılmadan pozitif olarak değerlendirildi. Toplamda IHC testlerde +3 olan 5 kişi (% 10) dışında pozitiflik saptanmadı (Tablo 19).

Tablo 19: IHC Değerlendirmede Her2 Pozitifliği ve SISH korelasyonu

IHC Değerlendirme	Hasta Sayısı	SISH Korelasyonu
Negatif	41	Gerekmiyor
+1	3	0
+2	1	0
+3	5	Gerekmiyor
Toplam Pozitif Sayısı	5	0

Her2 aşırı ekspresyonu gruplara göre değerlendirildiğinde bu hastalardan 4 tanesi (% 80) erkek, 1 (% 20) tanesi ise bayandı. Her2 pozitif olan ve negatif olan hastalar yaş açısından değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık saptanmadı. Lokalizasyona bakıldığında yaygın tutulumu olan 1 hastada, antruma lokalize 1 hastada, fundusta lokalize 1 hastada ve gövde kısmında tutulumu olan 2 hastada Her2 pozitifliği saptandı. Lokalizasyon ve Her2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0.375$). Histolojisi taşlı yüzük hücreli olan 17 hastamızın hiçbirinde Her2 pozitifliği yoktu. Ayrıca miks tipteki 3 hastamızda da Her2 negatifti. Taşlı yüzük hücre komponenti olanlarda Her2 negatifliği istatistiksel olarak sınırda anlamlı kabul edildi ($p=0.056$). Evrelere göre değerlendirme yapıldığında ise Her2 pozitif 1 hastamız (% 20) evre II, 1 hastamız (% 20) evre III ve 3 (% 60) hastamız evre IV idi. Evre ve metastaz ile Her2 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0.845$) (Tablo 20).

Tablo 20: Her2 Aşırı Ekspresyonunun Gruplara Göre Dağılımı

	Her2 Aşırı Ekspresyonu (IHC)		p değeri
	Her2 Negatif	Her2 Pozitif	
Hasta Sayısı	45 (% 100)	5 (% 100)	-
Yaş Ortalaması	60,51±14,65	57,6±16,63	-
Cinsiyet: Erkek	30 (% 66,7)	4 (% 80)	-
Bayan	15 (% 33,3)	1 (% 20)	
Lokalizasyon: Üst	7 (% 15,6)	1 (% 20)	0.375
Gövde	10 (% 22,3)	2 (% 40)	
Antrum-Pilor	12 (% 26,7)	1 (% 20)	
Çoklu Bölge	16 (% 35,5)	1 (% 20)	
Histolojik Tip: Taşlı Yüzük	17 (% 37,8)	0 (% 0)	0.056
Miks	3 (% 6,7)	0 (% 0)	
Diğer	25 (% 55,6)	5 (% 100)	
Evre I	3 (% 6,7)	0 (% 0)	0.845
II	6 (% 13,3)	1 (% 20)	
III	7 (% 15,6)	1 (% 20)	
IV	29 (% 64,4)	3 (% 60)	

Hastalarımızın Her2 gen amplifikasyonunu değerlendirmek amaçlı tümöral ve normal doku örneklerinden Her2 düzeyini hesaplamak için housekeeping gen olan ACTB geni kullanıldı ve ölçülen düzeylerin oranı hesaplandı. Hesaplanan bu oran değeri 1.25'in üzerinde olanlar artmış (amplifiye) ve 0.75'in altında olanlar ise azalmış kabul edildi.

Amplifikasyon saptanan 5 hastanın cinsiyeti erkekti. Azalma saptanan 3 hastanın 2'si bayan 1 tanesi erkekti. Lokalizasyona bakıldığında gen amplifikasyonu saptanan 5 hastanın 3'ünde (% 60) çoklu bölge, 1'inde (% 20) antrum-pilor ve 1'inde (% 20) gövde tutulumu saptandı ve lokalizasyonla amplifikasyon arasında anlamlı bir ilişki görülmedi ($p=0.459$). Histolojik tip ile gen amplifikasyonu değerlendirildiğinde anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0.290$). Amplifikasyon saptanan 5 hastanın 3 tanesi evre IV (% 60) idi ve evre ile gen amplifikasyonu arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.382$) (Tablo 21).

Tablo 21: Her2 Gen Amplifikasyonunun Gruplara Göre Dağılımı

	Her2 Gen Amplifikasyonu (PCR) T/N doku oranı			p değeri
	Artmış	Normal	Azalmış	
Hasta Sayısı	5 (% 100)	42 (% 100)	3 (% 100)	-
Yaş Ortalaması	62,6 ± 14,70	59,45 ± 15,12	67,0 ± 6,24	-
Cinsiyet: Erkek	5 (% 100)	28 (% 66,7)	1 (% 33,3)	-
Bayan	0 (% 0)	14 (% 33,3)	2 (% 66,7)	
Lokalizasyon: Üst	0 (% 0)	8 (% 19,0)	0 (% 0)	0.459
Gövde	1 (% 20)	11 (% 26,2)	0 (% 0)	
Antrum-Pilor	1 (% 20)	10 (% 23,8)	2 (% 66,7)	
Çoklu Bölge	3 (% 60)	13 (% 31,0)	1 (% 33,3)	
Histolojik Tip: Taşlı Yüzük	2 (% 40)	14 (% 33,3)	1 (% 33,3)	0.290
Miks	1 (% 20)	1 (% 2,4)	1 (% 33,3)	
Diğer	2 (% 40)	27 (% 64,3)	1 (% 33,3)	
Evre I	0 (% 0)	3 (% 7,1)	0 (% 0)	0.382
II	1 (% 20)	6 (% 14,3)	0 (% 0)	
III	1 (% 20)	4 (% 9,5)	3 (% 100)	
IV	3 (% 60)	29 (% 69,0)	0 (% 0)	

Hastaların normal ve tümöral dokularının Her2 gen amplifikasyonları ile IHC Her2 proteini aşırı ekspresyonu korelasyonunun değerlendirilmesinde bu oran % 0 idi ve istatistiksel olarak anlamsız kabul edildi (p=0.397) (Tablo 22).

Tablo 22: Her2 Aşırı Ekspresyonu ve Gen Amplifikasyonunun Karşılaştırılması

IHC değerlendirme	Her2 Gen Amplifikasyonu (PCR) T/N doku oranı			p değeri
	Artmış	Normal	Azalmış	
Negatif	5 (% 100)	37 (% 88,1)	3 (% 100)	0.397
Pozitif	0 (% 0)	5 (% 11,9)	0 (% 0)	
Toplam	5 (% 100)	42 (% 100)	3 (% 100)	

5. TARTIŞMA

Mide kanseri tüm dünyada yaygın görülen bir malignensi olup kansere bağılı ölümlerin başında yer almaktadır. Mide kanseri gelişiminde çevresel, genetik, ailesel faktörlerin yanısıra H.pylori ve beslenme şekli gibi faktörler de bulunmaktadır. İnsidansı coğrafi bölgelere, etnik gruplara, sosyo-ekonomik düzeye ve beslenme şekline göre değişiklik göstermekle birlikte asemptomatik olduğu için tanı geç evrelerde (çoğunlukla metastatik evrede) konmaktadır. Bu da tanı sonrası yaşam süresini kısaltmaktadır (4, 41). Çalışmaya aldığımız hastalarımızı evrelere göre değerlendirdiğimizde hastalarımızın % 64'ü tanı anında evre IV idi.

Mide kanserinde ortalama yaş 55 ve erkek / kadın oranı 2-3/1'dir. Bizim çalışmamızda ortalama yaş 60'larda saptanmış olup erkek / kadın oranı 2,1 / 1 saptandı.

Çalışmamızdaki tümör belirteçlerinin mide kanserindeki değerlerine bakıldığında CEA ve Ca 19-9 düzeylerinin evre ile ve metastazla ilişkili olduğu saptandı (p <0.05). Hem ayrı ayrı hem de birlikte değerlendirilen tümör belirteçlerindeki yükseklik istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (p <0.05).

Mide kanserinin tedavisinde cerrahi tedavi en önemli basamaktır ve kemoterapi neoadjuvan ya da adjuvan olarak tedaviye eklenir. Mide kanserinde tedavi rejimlerinin değerlendirilmesi ile ortalama sağkalım süresi düşük olduğundan hedefe yönelik tedaviler gündeme gelmiştir ve onkogen olarak görev yapan Her2 hedef alınarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Mide karsinogenezinde diğer organlardaki gibi çok basamaklı genetik değişiklikler, mutasyonlar söz konusudur. Her2 gen mutasyonu, amplifikasyonu da bunlardan biridir. Terapötik hedef olarak kullanılan bu genetik değişiklikleri değerlendirmek için çeşitli yöntemler kullanılır.

Her2 gen amplifikasyonu ve protein aşırı ekspresyonunu değerlendirmek amaçlı kullanılan yöntemler öncelikle meme kanserinde Her2 pozitifliği araştırılan çalışmalara göre değerlendirilmiştir. IHC en sık kullanılan, en ucuz ve en hızlı yöntemdir. Ama subjektif ve göreceli olarak değişen sonuçlar verebilir. Kalite kontrol bağımlıdır. FISH ise pahalı olmasına

rağmen güvenilirliği yüksektir. FISH ve IHC arasında korelasyon oranı % 73 ile % 98 arasında değişmektedir. Literatüre bakıldığında yapılan birçok çalışmada en sık FISH ve IHC esas değerlendirme testi olarak kullanılmıştır (13, 15, 33, 105, 106). Bazı araştırmalarda FISH altın standart yöntem olarak değerlendirilmiştir (31). Bizim çalışmamızda aşırı ekspresyonu değerlendirmek için IHC ve gen amplifikasyonu için PCR yöntemi tercih edildi.

Öncelikle meme kanseri üzerinde Her2 pozitifliği kötü prognostik faktör olarak belirlenmiş ve anti-Her2 ajanlarından transtuzumab meme kanserinde standart tedaviler arasına girmiştir (13, 19, 67, 68) .

Her2 ile yapılan en çok çalışma meme kanseri ile ilişkili olup diğer tümörler ile de yapılan çalışmalar vardır. Kolon, over, akciğer, prostat, mesane kanserlerinin Her2 pozitifliği üzerine yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (1, 5, 13, 18-30, 64, 65).

Mide kanserinde Her2 proteini aşırı ekspresyonu ilk kez 1986 yılında Sakai ve arkadaşları tarafından IHC ile çalışılmıştır (107). Sonrasında yapılan çalışmalarda mide kanserinde farklı yöntemlerle % 8,5 ile % 32 arasında değişen oranda Her2 pozitifliği saptanmış, lenf nodu tutulumu, agresif seyirli hastalık ve kısa sağkalımla ilişkili olduğu düşünülerek kötü bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (1, 15, 34, 61, 103-105, 108, 109). Bazı çalışmalarda ise Her2 pozitifliğinin prognozla ve lenf nodu tutulumu ile ilişkili olmadığı savunulmuştur. Kullanılan tekniğin, kullanılan IHC antikorunun, çalışmadaki hasta sayısının, histopatolojik subtipin, diferansiyasyon derecesi ve evrenin önemini belirterek yapılan çalışmalarda bu yönlerden farklar olduğu belirtilmiştir (110-113).

Mide kanserinde Her2 pozitifliği sonuçlarına bakıldığında çalışmalar arasında % 8'den % 32'lere kadar uzanan farklı sonuçlar göze çarpmaktadır. Bu geniş aralıktaki farkın nedeni multifaktöriyeldir. Tümörün histolojisine, hasta popülasyonuna, yaş grubuna, evreye ve en önemlisi kullanılan yöntemle bağlıdır. Kullanılan yöntem aynı olsa bile yöntemin çalışılma şekli de (örneğin; IHC için kullanılan antikor gibi) önem arz etmektedir (15, 114).

Mide kanserinde Her2'nin IHC ile değerlendirilmesi meme kanserine göre farklılıklar göstermektedir. Birincisi; membranöz boyanma reaktivitesinin mide kanserinde tam olmamasıdır. İkincisi ise tümöral heterojenitenin meme kanserine kıyasla mide kanserinde daha yüksek oranda görülmesidir (34, 115).

IHC ile Her2 çalışılan parafin doku örneklerinde meme kanseri ve mide kanseri karşılaştırıldığında mide tümörü dokularında yetersiz immünreaktivite olduğu ve meme kanseri hücrelerine göre düşük oranda boyanma gösterdiği belirtilmiştir (115).

Lauren sınıflamasına göre mide kanserleri intestinal ve diffüz diye iki tiptir. Literatürdeki çalışmalarda intestinal tipte Her2 pozitifliği daha yüksek oranda bulunmuştur (13, 15, 33, 61, 70-72). Bizim çalışmamızda patolojik değerlendirmede mide adenokarsinomu olanlar alınmış olup Lauren sınıflaması yapılmamıştır.

Garcia ve arkadaşlarının (70) yaptığı bir çalışmada Her2 ve yaş, cinsiyet, lokalizasyon, evre, histolojik tip gibi parametreler incelenmiş olup bunlardan intestinal tip, ileri evre, lenf nodu tutulumu ile ilişki saptanmıştır. Bizim çalışmamızda histolojik tip dışında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.056$).

Motojima (103) ve Mizutani'nin (104) yaptığı iki farklı çalışmada Her2 ekspresyonunda artış saptanan mide kanserlerin iyi diferansiye olduğu, lenfatik invazyonun arttığı, metastazların daha erken olduğu ve tedavi sonrası yaşam süresinin daha kısa olduğu gösterilmiştir. Bu da kötü prognostik faktör olduğunun göstergesidir. Transtuzumab gibi anti-Her2 ajanların tedavide kullanılması ile Her2'nin prognostik etkisi de değerlendirilmiştir (13, 33, 115, 116).

Kimura ve arkadaşları (117) yaptıkları araştırmada ise Her2 pozitifliği ve mide kanserinde evre, lenf nodu tutulumu, invazyon arasında ilişki olmadığını savunarak prognostik değeri olmadığını ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmada IHC ve FISH arasında % 83 korelasyon olduğu bildirilmiştir.

Yapılan çalışmaların çoğunda hem mide hem de gastroözofajiyal bileşke tümörleri birlikte değerlendirilmiş olup Her2 pozitifliği daha yüksek oranda saptanmıştır. Bazı çalışmalarda % 30'ların üzerinde pozitiflik saptanmış olup gastroözofajiyal bileşke tümörlü hastalarda pozitiflik oranı yüksektir (1, 13, 22, 33, 61). Çalışmamıza sadece mide adenokarsinomu tanısı alan hastalar alınmış olup gastroözofajiyal bileşke tümörleri alınmamıştır.

Chua ve arkadaşlarının (118) yaptığı bir yayın derlemesinde en çok kullanılan yöntemin IHC olduğu sonrasında ISH'in geldiği gösterilmiştir. Ortalama Her2 pozitiflik oranı % 18 olduğu, Her2 pozitif hastaların yaşam sürelerinin daha kısa olduğu ve kötü prognostik faktör olduğu şeklinde yorumlar yapılmıştır. Aynı araştırmada Her2 pozitifliği ve yaş, cinsiyet, lokalizasyon, tümör boyutu, invazyon, evre gibi parametrelerle anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Mide kanserlerinin çeşitli histopatolojik tipleri vardır ve adenokarsinomların 5 subtipi bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda tubuler tipte Her2 pozitifliği yüksek ve taşlı yüzük hücreli tipte ise en düşüktür (119). Bizim çalışmamız sonucunda IHC ile 50 hastamızın 5'inde Her2 pozitifliği saptandı. Düşük pozitiflik gösteren 4 hastamız FISH ile korelasyonla negatif kabul edildi. Araştırmamızda Her2 pozitifliğinin yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu ve evre ile ilişkisi saptanmadı ($p > 0.05$). Hastalarımızdan alınan doku biyopsilerini histopatolojik değerlendirilme ile taşlı yüzük hücre komponenti içerip içermemesine göre; taşlı yüzük hücreli, miks ve diğer tipler diye üçe ayırdık. IHC değerlendirmede taşlı yüzük hücreli ve miks tiplerde pozitiflik saptanmadı. Pozitif olan hastalarımız diğer tipleri içermekteydi ve istatistiksel olarak sınırda anlamlı kabul edildi ($p=0.056$).

Giuffré ve arkadaşlarının (119) yaptığı çalışmada Her2 pozitifliğinin mide kanserinde yüksek grade ve yüksek evre ile ilişkili olduğunu belirtmiştir. IHC ile Her2 değerlendirilmesi yapılan bu çalışmada Her2 pozitifliğinin atipik mide tümörleri ile ilişkisi araştırılmıştır. Her2 aşırı ekspresyonunun yaşam süresi ve mortalite ile ilişkili olduğu savunulmuş ve Her2 kötü prognostik faktör lehine yorumlanmıştır (116, 119).

Çalışmamızda hastalarımızın gen amplifikasyonunu değerlendirmek amaçlı kullandığımız PCR yöntemi sonucu ile 5 hastamızda amplifikasyon saptandı. Bu hastaların pozitif amplifikasyon sonucu ile yaş, lokalizasyon, histolojik tip ve evre arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p > 0.05$).

IHC ve amplifikasyon arasında korelasyonu değerlendirdiğimizde bu oran % 0 saptandı. IHC pozitif olan hastalarımızda amplifikasyon saptanmazken, amplifikasyon saptanan hastalarımızın hiçbirinde aşırı protein ekspresyonu yoktu.

Risio ve arkadaşları (106) yapmış oldukları çalışmada IHC çalışılan sürenin önemli olduğunu vurgulamışlardır. Hazırlanan parafin blokların IHC değerlendirilmesi geciktikçe negatifleşme oranının artacağını belirtmişlerdir. Araştırmamızda 2 yıl boyunca toplanan 50 vakanın IHC değerlendirmesi araştırma sonunda birlikte yapıldı ve pozitiflik oranı son dönemde tanı alan hastalarda daha yüksek saptandı.

Kim ve arkadaşlarının (114) yaptığı bir çalışmada Her2 pozitifliği 3 farklı yöntemle değerlendirilmiştir. Pozitif olan grubun orta ya da iyi diferansiye tümörler olduğu bildirilmiştir. Yine bu çalışmada da yaş, evre, cinsiyet ile ilişki olmadığı saptanmıştır. FISH ile değerlendirilen hastalar PCR ile korelasyon amaçlı değerlendirilmiş olup % 97,6 korelasyon saptanmıştır. Normal dokularla kıyaslama yapılmamıştır. IHC olarak negatif olan

4 hastada PCR ile amplifikasyon saptanmış olup IHC 1+ olan 1 hastada FISH negatifken PCR ile amplifikasyon yüksek oranda saptanmıştır.

Königshoff ve arkadaşlarının (120) yaptıkları çalışmada Real-Time PCR ile gen amplifikasyonu, heterozigosite ve IHC durumu karşılaştırılmıştır. PCR kullanım kısıtlılığının örnek stabilizasyonundaki zorluklarla bağlı olduğu belirtilmiştir. Eğer stabilizasyon sağlanmazsa RNA yıkımının arttığı ve Real-Time reaksiyonunun güvenilirliğinin azalacağı bildirilmiştir. Ayrıca amplifikasyonun doku sınırlı olduğunu belirtip heterojeniteye değinmişlerdir. IHC pozitif olan ve PCR ile amplifikasyon saptanmayan hastalar için transkripsiyon veya posttranslasyonel aktivasyonla ilişki olduğunu vurgulamışlardır. PCR ile amplifikasyon saptanan hastaların IHC değerlendirilmesinde negatif olmasını ise amplifikasyon saptanan bölgenin promoter kısmının olmamasına değinmişlerdir. Ek olarak amplifikasyonun yakın zamanda gerçekleşmiş olup protein aşırı ekspresyon basamağına henüz geçilmemiş olabileceği şeklinde yorum yapmışlardır. Başka bir deyişle amplifikasyonla aşırı ekspresyon arasında belirli bir süre olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca parafin blokların çalışma süresi uzadıkça IHC ile negatif sonuç alma oranının arttığını söylemişlerdir.

IHC değerlendirme ile pozitiflik saptanan ve amplifikasyon saptanmayan hastalarda belirtilmesi gereken bir nokta da biyopsinin çevresel dokularla ilişkisidir. Dabbs ve arkadaşlarının (121) belirttiği gibi alınan doku tümöral bölgeden alınsa bile az ya da yetersiz miktarda invaziv tümör dokusu içeriyor olabilir. Ya da çevresel doku elemanları (yağ dokusu, fibröz doku, nekrotik doku, bağ dokusu gibi) ve immün sistem elemanları (reaktif hücreler, lenfositler, makrofajlar gibi) içerdiğinden kullanılan PCR yönteminde tümör mRNA'sı dilüe olup negatif saptanmaktadır. Bu da yalancı negatifliğe yol açmaktadır. Ayrıca bilindiği gibi gastrik intratümöral alan heterojen bir yapıdadır. Tümörün bölgesine göre gen ekspresyonu değişen oranda olduğundan alınan biyopsi kısmının Her2'yi düşük oranda gen amplifikasyonu olan ya da hiç olmayan bölgeye denk gelmesi de yanlış negatifliği arttırmaktadır. Bunun tam tersi de geçerli olup amplifikasyon pozitif saptanan hastaların alınan biyopsisi heterojenite nedeniyle 1+ ve 3+ arası saptanabilir. Bu da amplifikasyonu pozitif olanlarda IHC ile korelasyon düşüklüğüne neden olmaktadır (5, 120, 122). Bu konuda belirtilmesi gereken nokta; Her2 pozitifliğinin belirlenmesinin hala onkolog ve patologlar arasında tartışma nedeni olduğudur. Çünkü bu durum anti-Her2 tedaviler açısından kullanımı kısıtlayarak efektif tedaviyi (hedefe yönelik tedaviyi) olumsuz etkilemektedir. Bu yüzden bazı çalışmalar tedavi öncesi en az iki farklı yöntemle (IHC ve FISH gibi) korelasyonun sağlanmasını önerirler (123).

Lemoine (72) ve Kameda'nın (124) yaptıkları iki farklı çalışmada amplifikasyon ve ekspresyon arasında korelasyon oranı düşük saptanmıştır. Aşırı ekspresyon oranı yüksekken amplifikasyonu negatif saptanan hastalarda gen amplifikasyonunun primer mekanizma olmadığını savunmuşlardır. Aşırı ekspresyonun farklı genler aracılığı ile olduğunu, bu genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu arttırabileceğini ya da posttranskripsiyonel olaylarda değişiklik yaparak sağlanabileceğini belirtmişlerdir. Güncel çalışmalarda korelasyon oranı giderek artmıştır.

O'Malley ve arkadaşlarının (122) yaptığı çalışmada, Her2 üç farklı immünohistokimyasal teknikle değerlendirilip PCR ile korelasyonu araştırılmıştır. Bu üç farklı yöntemin PCR ile korelasyonu % 82, % 89, % 80 saptanmıştır. 8 hastada PCR ile gen amplifikasyonu saptanırken IHC ile negatif olduğu görülmüştür. Bu durum 3 adet farklı ve yüksek sensitiviteli antikor detection kitinin dahi düşük düzeydeki proteinleri saptamada yetersiz olduğunun göstergesidir. Aynı çalışmada 11 hastada gen amplifikasyonu saptanmazken 3 antikor tipinde de IHC pozitiflik dikkati çekmiştir. Bu vakalarda, alınan tümöral doku örneğindeki amplifikasyon negatifliğinin heterojenite ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Yaptığımız çalışmada hem tümöral hem de normal dokudan biyopsiler alınmış olup tümöral dokuların patolojik değerlendirme raporları mevcuttur. Ama normal olarak kabul edilen dokular makroskopik olarak değerlendirilmiştir ve histopatolojik olarak değerlendirme yapılmamıştır. Bunun sonucunda normal kabul edilen dokunun tümöral doku olma ihtimali de göz önüne alınmalı ve amplifikasyon oranı normal ya da düşük saptanan hastalarda oranın değişebileceği ve yanlış negatifliğe sebep olabileceği unutulmamalıdır.

Bang ve arkadaşlarının (33) yapmış olduğu ToGA çalışmasında mide kanserinin Her2 pozitifliği değerlendirilmiş ve transtuzumab bu hastalarda birinci basamak tedavi olarak protokollere eklenmiştir. IHC ve FISH kullanılan bu çalışmada % 87 korelasyon saptanmıştır. Her2 pozitifliği terapötik hedef olarak kullanılmış ve sağkalım süresi üzerine olumlu yanıt elde edilmiştir. Bu çalışmada belirtilen en önemli sonuçlardan biri ise amplifikasyon pozitif saptanan hastalarda eğer protein aşırı ekspresyonu yoksa anti-Her2 ajanların etkisiz olacağıdır.

Yaptığımız tüm çalışmalar neticesinde mide karsinomunda Her2 için IHC ile pozitiflik % 10 ve PCR ile gen amplifikasyonu % 10 saptandı. Bu oranlar literatürdeki çalışmalarla benzer oranda olmasına rağmen iki yöntem arasında korelasyon % 0 saptandı. Literatürdeki korelasyon oranı % 60-95 arasında değişmektedir. Çalışma yöntemlerinin uyumsuzluğu ve

yanlış negatifliği ekarte etmek amaçlı ISH ile korelasyon daha anlamlı sonuçlar verebilir. Çalışılan parafin blokların hazırlanma sonrası hemen değerlendirilmesi gerekmektedir. Çünkü değerlendirme süresi uzadıkça negatifleşme oranı artmaktadır.

Gen amplifikasyonunu değerlendirmek için alınan normal ve tümöral doku örneklerden normal dokuların histopatolojik olarak değerlendirilip normal mide dokusu olduğunun belirtilmesi gerekmektedir. Böylelikle ortaya çıkan uyumsuzluk yanlış negatifliğe bağlıysa ortadan kalkmış olacaktır.

Mide kanserinde heterojenitenin önemli olduğu bilindiği gibi IHC için alınan biyopsinin yeterli olması gerekmektedir. Yetersiz alınan biyopsi heterojeniteyi gizleyip yanlış negatifliği arttırır. Yine gen amplifikasyonu çalışılmak üzere alınan dokunun dilüe olmasının önlenmesi gerekmektedir.

Her2 aşırı ekspresyonu gösteren mide kanseri hastalarında, hedefe yönelik tedavi olan trastuzumabın etkin bir tedavi olduğu ancak Her2 açısından yapılan değerlendirme yöntemlerinin daha fazla klinik çalışmayla desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mide adenokarsinomu tanısı alan hastalarda yapılan bu çalışmada şu sonuçlara varılmıştır;

1. Prospektif olarak yapılan bu çalışma sonucunda 50 hastamızın Erkek / Kadın oranı 2.1 / 1 saptandı. Ortalama yaş 60,22 idi.

2. Hastalarımızın alınmış biyopsi örneklerinin parafin bloklarından IHC Her2 değerlendirme sonucunda 3 hastamızda 1+, 1 hastamızda 2+ ve 5 hastamızda 3+'lik saptandı. 1+ ve 2+ olan hastalar SISH ile değerlendirildi ve pozitif kabul edilmedi. Geriye kalan 3+ hastalar dışında pozitiflik yoktu ve oran % 10 olarak hesaplandı.

3. Alınan hem tümöral hem de normal doku biyopsilerinden Her2 amplifikasyonu real-time PCR yöntemi ile çalışıldı ve 5 hastada amplifikasyon saptandı. Bu oran % 10 idi.

4. Bu hastaların CEA ve Ca 19-9 düzeyleri çalışıldı ve bu tümör belirteçlerinin evre ve metastazla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p < 0.05$).

5. Her2 proteininin aşırı ekspresyonunun yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu ve evre ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkili saptanmadı ($p > 0.05$). IHC değerlendirmede histolojik tiplerinden taşlı yüzük hücre komponenti içeren tümörlerin Her2 negatifliği arasında sınırda bir anlamlılık saptandı ($p=0.056$).

6. PCR ile yapılan Her2 amplifikasyonu saptanan hastalarda yaş, lokalizasyon, histolojik tip ve evre ile arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p > 0.05$).

7. PCR ve IHC ile pozitif saptanan hastalar kıyaslandığında korelasyon % 0 idi. İstatistiksel olarak anlamsız kabul edildi ($p > 0.05$). Bu oran literatürle uyumlu değildi.

8. Mide kanserlerinde tanı geç evrede olduğundan ve erken evrede hastalar asemptomatik olduğundan erken tanı veya tarama yöntemleri hastalığın tedavisinde önemli başarılar elde edilmesine zemin oluşturacaktır.

9. Mide kanserinde standart bir kemoterapi protokolü olmamakla birlikte hedefe yönelik tedaviler gündeme gelmiştir. Transtuzumab gibi anti-Her2 ajanlar birçok kanser türünde olduğu gibi mide kanserinde de kullanılmaya başlanmıştır.

10. Mide kanserlerinin tedavisinde, Her2 aşırı ekspresyonu gösteren vakalarda, trastuzumabın birinci basamak tedavide kullanılabileceği ToGA çalışması ile desteklenmiş olup çalışılan yöntemle yanlış negatif oranının yüksek olma ihtimaline karşı en az 2 farklı yöntemle desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

11. Yapılan birçok çalışmada Her2 değerlendirmesi IHC ve FISH ile korele edilmiş olup PCR'ın sensitivitesinin düşük olduğu kaanatındeyiz. Bu hipotezi doğrulamak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

12. Ek mutasyonları ve polimorfizmleri de içeren yeni çalışmaların, muhtemel ilişkiyi ortaya koymak üzere yapılmasına ihtiyaç vardır.

13. Mide kanserleri için, mevcut verilerle Her2 aşırı ekspresyonunun ve amplifikasyonunun prognostik değeri düşük görülmektedir. Tartışmalı olan bu konunun aydınlatılabilmesi için daha geniş katılımlı, prospektif olarak uzun takip süreli ve sağkalımın değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- 1.** Gravalos C, Jimeno A et al. Her2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann Oncol.* 2008;19(9): 1523-1529.
- 2.** Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol* 2003;56: 1–9.
- 3.** Devita Jr. VT, Lawrence TS, Rosenberg SA(eds). Global cancer incidence and mortality. In: *Cancer principles and practice of oncology*, 9th edition. Philadelphia, Lippincot, Williams & Wilkins 2011: 241-260.
- 4.** Devita Jr. VT, Lawrence TS, Rosenberg SA(eds). Cancer of the stomach. In: *Cancer principles and practice of oncology*, 9th edition. Philadelphia, Lippincot, Williams & Wilkins 2011: 924-954.
- 5.** Albarello L, Pecciarini L et al. Her2 testing in gastric cancer. *Adv Anat Pathol* 2011;18(1): 53-59.
- 6.** Miyamoto A, Kuriyama S, Nishino Y, et al. Lower risk of death from gastric cancer among participants of gastric cancer screening in Japan: a population-based cohort study. *Prev Med* 2007;44: 12-17.
- 7.** Kamineni A, Williams MA, Schwartz SM, et al. The incidence of gastric carcinoma in Asian migrants to the United States and their descendants. *Cancer Causes Control.* 1999;10(1): 77-83.

- 8.** Yasui W, Oue N, et al. Molecular-pathological prognostic factors of gastric cancer: a review. *Gastric Cancer* 2005;8: 86–94.

- 9.** Hamilton JP, Meltzer SJ. A review of the genomics of gastric cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4: 416-425.

- 10.** Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Pathological basis of diseases*. 7th edition. W.B. Saunders 2003: 178-210.

- 11.** Devita Jr. VT, Lawrence TS, Rosenberg SA(eds). *Molecular biology of the esophagus and stomach*. In: *Cancer principles and practice of oncology*, 9th edition. Philadelphia, Lippincot, Williams & Wilkins 2011: 882-886.

- 12.** Moore A, Appelbaum FR, Loprinzi CL, Ruggiero JT(eds). *Molecular biology*. In: *Medical oncology self- evaluation program*, 2nd edition. ASCO-SEP 2010: 21-56.

- 13.** Okines AF, Cunningham D. Trastuzumab in gastric cancer. *Eur J Cancer* 2010;46(11): 1949-1959.

- 14.** Garcia I, Casar JM, Corte MD, et al. Epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 contents in unresectable (UICC R1 or R2) gastric cancer. *The International Journal of Biological Markers* 2003;18: 204-210.

- 15.** Jørgenson JT, Hersom M, HER2 as a prognostic marker in gastric cancer – A systematic analysis of data from the literature. *J Cancer* 2012;3: 137-144.

- 16.** Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985;230: 1132–1139.

- 17.** Chen JS, Lan K, Hung MC. Strategies to target HER2/neu overexpression for cancer therapy. *Drug Resistance Updates* 2003;6: 129–136.
- 18.** Kaptain S, Tan LK, Chen B. Her-2/neu and breast cancer. *Diagn Mol Pathol* 2001;10: 139–152.
- 19.** Wang SC, Hung MC. HER2 overexpression and cancer targeting. *Semin Oncol* 2001;16: 115–124.
- 20.** Schuell B, Gruenberger T, Scheithauer W et al. HER 2/neu protein expression in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2006;8(6): 123-127.
- 21.** Reichelt U, Duesedau P, Tsourlakis MCh et al. Frequent homogenous HER-2 amplification in primary and metastatic adenocarcinomas of the esophagus. *Mod Path* 2007;20(1): 120-129.
- 22.** Kang Y, Bang Y, Lordick F et al. Incidence of gastric and gastro-esophageal cancer in the ToGA trial: correlation with HER2 positivity 2008 Gastrointestinal Cancers Symposium. 75 (Abstr 11).
- 23.** Eltze E, Wülfing C, Von Struensee D, Piechota H et al. Cox-2 and Her2/neu co-expression in invasive bladder cancer. *Int J Oncol* 2005;26(6): 1525–1531.
- 24.** Mellon JK, Lunec J, Wright C. C -erbB-2 in bladder cancer. Molecular biology correlation with epidermal growth factor receptors and prognostic value. *J Urol* 1996;155: 321-326.
- 25.** McKenzie SJ, DeSombre KA, Bast BS et al. Serum levels of HER-2 neu (C-erbB-2) correlate with overexpression of p185neu in human ovarian cancer. *Cancer* 1993;71: 3942–3946.
- 26.** Seidman JD, Frisman DM, Norris HJ. Expression of the HER-2/neu protooncogene in serous ovarian neoplasms. *Cancer* 1992;70: 2875-2880.

- 27.** Hetzel DJ, Wilson TO, Keeney GL et al. HER-2/neu expression: a major prognostic factor in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1992;47: 179–185.

- 28.** Hirashima N, Takahashi W, Yoshii S et al. Protein overexpression and gene amplification of c-erb B-2 in pulmonary carcinomas: a comparative immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study. *Mod Pathol* 2001;14: 556–662.

- 29.** Mitra AB, Murty VVS, Pratap M et al. ERBB2 (HER2/neu) oncogene is frequently amplified in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Cancer Res* 1994;54: 637–639.

- 30.** Beckhardt RN, Kiyokawa N, Xi L et al. HER-2/neu oncogene characterization in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;121(11): 1265–1270.

- 31.** Gómez-Martin C, Garralda E, Echarri MJ et al. Her2/neu testing for anti-HER2-based therapies in patients with unresectable and/or metastatic gastric cancer. *J Clin Pathol*. 2012;10: 1126-1142.

- 32.** Van Cutsem E, Kang Y, Chung H, et al. Efficacy results from the ToGA trial: a phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced cancer. *J Clin Oncol* 2009;27: 798(abstract)

- 33.** Bang Y, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung H, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376: 687-697.

- 34.** Hofmann M, Stoss O, Shi D, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology*. 2008;52(7): 797-805.

- 35.** Rustgi AK. Neoplasms of the stomach. In: Goldman L, Ausiello D, eds. *Cecil Medicine*. 23rd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier 2011;202: 1465-1469.

- 36.** Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55(2): 74-108.
- 37.** Al-Refaie WB, Tseng JE, Gay G, et al. The impact of ethnicity on the presentation and prognosis of patients with gastric adenocarcinoma. Results from the National Cancer Data Base. *Cancer* 2008;113(3): 461-469.
- 38.** Anderson WFC, Fraumeni FJ, Rosenberg PS, Rabkin CS. Age-specific trends in incidence of noncardia gastric cancer in US adults. *JAMA* 2010;303(17): 1723-1728.
- 39.** Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006;118: 3030-3044.
- 40.** Graham DY, Asaka M. Eradication of gastric cancer and more efficient gastric cancer surveillance in Japan: two peas in a pod. *J Gastroenterol* 2010;45(1): 1-8.
- 41.** Moore A, Appelbaum FR, Loprinzi CL, Ruggiero JT(eds). *Gastrointestinal cancers*. In: *Medical oncology self- evaluation program*, 2nd edition. ASCO-SEP 2010: 213-244.
- 42.** McMichael AJ, McCall MG, Hartshorne JM, et al. Patterns of gastro-intestinal cancer in European migrants to Australia: the role of dietary change. *Int J Cancer* 1980;25(4): 431-437.
- 43.** Stadtlander CT, Waterbor JW. Molecular epidemiology, pathogenesis and prevention of gastric cancer. *Carcinogenesis* 1999;20(12): 2195-2207.
- 44.** Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: state of the art. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5: 477-481.
- 45.** Tepes B. Can gastric cancer be prevented? *J Physiol Pharmacol*. 2009; 60(7): 71-77.

- 46.** Ma JL, Zhang L, Pan KF, et al. Helicobacter pylori and the progression of gastric cancer: a 10-year cohort study. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2005;85(39): 2758-2761.
- 47.** Kato M, Asaka M, Shimizu Y, et al. Relationship between Helicobacter pylori infection and the prevalence, site and histological type of gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20(1): 85-89.
- 48.** Huang JQ, Sridhar S, Chen Y, et al. Meta-analysis of the relationship between Helicobacter pylori seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology*. 1998;114(6): 1169-1179.
- 49.** Kamangar F, Dawsey SM, Blaser MJ, et al. Opposing risks of gastric cardia and noncardia gastric adenocarcinomas associated with Helicobacter pylori seropositivity. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(20): 1445-1452.
- 50.** Ye W, Held M, Lagergren J, et al. Helicobacter pylori infection and gastric atrophy: risk of adenocarcinoma and squamous-cell carcinoma of the esophagus and adenocarcinoma of the gastric cardia. *J Natl Cancer Inst* 2004;96(5): 388-396.
- 51.** Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric Cancer* 2007;10(2): 75-83.
- 52.** Hernandez-Ramirez RU, Galván-Portillo MV, Ward MH, et al. Dietary intake of polyphenols, nitrate and nitrite and gastric cancer risk in Mexico City. *Int J Cancer* 2009;125(6): 1424-1430.
- 53.** Liu C, Russell RM. Nutrition and gastric cancer risk: an update. *Nutr Rev*. 2008;66(5): 237-249.
- 54.** Gonzalez CA, et al. Smoking and the risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2003;107(4): 629-634.

- 55.** Steevens J, Schouten LJ, Goldbohm RA, et al. Alcohol consumption, cigarette smoking and risk of subtypes of oesophageal and gastric cancer: a prospective cohort study. *Gut* 2010;59(1): 39-48.
- 56.** Yang P, Zhou Y, Chen B, et al. Overweight, obesity and gastric cancer risk: results from a meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cancer* 2009;45(16): 2867-2873.
- 57.** Fisher SG, Davis F, Nelson R, et al. A cohort study of stomach cancer risk in men after gastric surgery for benign disease. *J Natl Cancer Inst* 1993;85(16): 1303-1310.
- 58.** Zanghieri G, Di Gregorio C, Sacchetti C, et al. Familial occurrence of gastric cancer in the 2-year experience of a population-based registry. *Cancer* 1990;66: 2047-2051.
- 59.** Ascano JJ, Moskaluk CA, Harper JC, et al. Inactivation of the E-cadherin gene in sporadic diffuse-type gastric cancer. *Mod Pathol* 2001;14: 942-949.
- 60.** Machado JC, Soares P, Carneiro F, et al. E-cadherin gene mutations provide a genetic basis for the phenotypic divergence of mixed gastric carcinomas. *Lab Invest* 1999;79(4): 459-465.
- 61.** Tanner M, Hollmen M, Junttila TT et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with topoisomerase IIa gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005;16: 273-278.
- 62.** Tian W, Zhao Y, Liu S, Li X, et al. Meta-analysis on the relationship between nonsteroidal anti-inflammatory drug use and gastric cancer. *Eur J Cancer Prev* 2010;19: 288-298.
- 63.** Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2000;103(2): 211-225.

- 64.** Day JD, Di Giuseppe JA, Yeo C, Lai–Goldman M, Anderson SM, Goodman SN, Kern SE, Hruban RH, Immunohistochemical evaluation of HER-2/neu expression in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasms. *Hum Pathol* 1996;27: 119-124.
- 65.** Ross JS, Sheean C, Hayner Buchan AM, Ambros RA, Kallakury BV, Kaufman R, Fisher HA, Maruca PJ. HER-2/neu gene amplication status in prostate cancer by flourescence insutu hybridization. *Hum Pathol* 1997;28: 827-833.
- 66.** Ross JS, McKenna BJ. The HER-2/neu Oncogene in Tumors of the Gastrintestinal Tract. *Cancer Investigation* 2001;19: 544-568.
- 67.** Slamon D, Eiermann W, Robert N, et al. Adjuvant trastuzumab in HER-2 positive breast cancer. *N Engl J Med* 2011;365(14): 1273-1283.
- 68.** Harries M, Smith I. The development and clinical use of trastuzumab (Herceptin). *Endocr Relat Cancer* 2002;9: 75–85.
- 69.** Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*. 2001;344: 783–792.
- 70.** Garcia I, Vizoso F, Martin A, et al. Clinical significance of the Epidermal Growth Factor Receptor and HER2 Receptor in resectable gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2003;10(3): 234-241.
- 71.** Polkowski W, van Sandick JW, Offerhaus GL et al. Prognostic value of Lauren’s classification and c-erbB-2 oncogene overexpression in adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Ann Surg Oncol* 1999;6: 290–297.
- 72.** Lemoine NR, Jain S, Silvestre F et al. Amplification and overexpression of the EGF receptor and c-erbB-2 proto-oncogenes in human stomach cancer. *Br J Cancer* 1991;64: 79–83.

- 73.** Maconi G, Manes G, Porro GB. Role of symptoms in diagnosis and outcome of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2008;14(8): 1149-1155.
- 74.** Axon A. Symptoms and diagnosis of gastric cancer at early curable stage. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006;20(4): 697-708.
- 75.** Rugge M, Kim JG, Mahachai V, et al. OLGA gastritis staging in young adults and country-specific gastric cancer risk. *Int J Surg Pathol* 2008;16(2): 150-154.
- 76.** Laurén P. The Two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma: an attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965;64: 31-49.
- 77.** Guilford P, Hopkins J, Harraway J, et al. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature* 1998;392: 402-405.
- 78.** Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, et al: E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinoma. *Cancer Res* 1994;54: 3845-3852.
- 79.** Hundahl SA. Staging, stage migration, and patterns of spread in gastric cancer. *Semin Radiat Oncol* 2002;12(2): 141-149.
- 80.** Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC Cancer Staging Manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* 2010;17(6): 1471-1474.
- 81.** Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma - 2nd English Edition. *Gastric Cancer* 1998;1(1): 10-24.
- 82.** Gotoda T, et al. Incidence of lymph node metastasis from early gastric cancer: Estimation with a large number of cases at two large centers. *Gastric Cancer* 2000;3(4): 219-225.

83. Kwee RM, Kwee TC. Predicting lymph node status in early gastric cancer. *Gastric Cancer* 2008;11(3): 134-138.

84. Haruta H, Hosoya Y, Sakuma K, et al. Clinicopathological study of lymph-node metastasis in 1389 patients with early gastric cancer: assessment of indications for endoscopic resection. *J Dig Dis* 2008;9(4): 213-218.

85. Sung C, Hsu C, Hsu J, Yeh T, et al. Predictive factors of lymph node metastasis in early gastric cancer. *World J Gastro* 2010;16(41): 5252-5256.

86. Park JM, Kim SW, Nam KW, et al. Is it reasonable to treat early gastric cancer with signet ring cell histology by endoscopic resection? Analysis of factors related to lymph-node metastasis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21(10): 1132-1135.

87. Hirasawa T, Gotoda T, Miyata S, et al. Incidence of lymph node metastasis and the feasibility of endoscopic resection for undifferentiated-type early gastric cancer. *Gastric Cancer* 2009;12(3): 148-152.

88. Smith DD, Schwarz RR, Schwarz RE. Impact of total lymph node count on staging and survival after gastrectomy for gastric cancer: data from a large US-population database. *J Clin Oncol* 2005;23(28): 7114-7124.

89. Schwarz RE, Smith DD. Clinical impact of lymphadenectomy extent in resectable gastric cancer of advanced stage. *Ann Surg Oncol* 2007;14(2): 317-328.

90. Kodera Y, Schwarz RE, Nakao A. Extended lymph node dissection in gastric carcinoma: where do we stand after the Dutch and British randomized trials? *J Am Coll Surg* 2002;195(6): 855-864.

91. Cheong O, Kim BS, Yook JH, et al. Modified radical lymphadenectomy without splenectomy in patients with proximal gastric cancer: comparison with standard D2 lymphadenectomy for distal gastric cancer. *J Surg Oncol* 2008;98(7): 500-504.

- 92.** Deng JY, Liang H, Sun D, Zhan HJ, Wang XN. The most appropriate category of metastatic lymph nodes to evaluate overall survival of gastric cancer following curative resection. *J Surg Oncol* 2008;98(5): 343-348.
- 93.** Woodall CE III, Scoggins CR, McMasters KM, et al. Adequate lymphadenectomy results in accurate nodal staging without an increase in morbidity in patients with gastric adenocarcinoma. *Am J Surg* 2008;196(3): 413-417.
- 94.** Songun I, van de Velde CJ. Optimal surgery for advanced gastric cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2009;9(12): 1849-1858.
- 95.** Kerkar SP, Kemp CD, Duffy A, et al. The GYMSSA trial: A prospective randomized trial comparing gastrectomy, metastasectomy plus systemic therapy versus systemic therapy alone. *Trials* 2009;10: 121-128.
- 96.** Kerkar SP, Kemp CD. Avital I. Liver resection for metastatic gastric cancer. *HPB* 2010;12: 589-596.
- 97.** Sastre J, Garcí'a-Saenz JA, Dí'az-Rubio E. Chemotherapy for gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006;12(2): 2004–2213.
- 98.** Wagner AD, Grothe W, Haerting J et al. Chemotherapy in advanced gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on aggregate data. *J Clin Oncol* 2006;24: 2903–2909.
- 99.** Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T, et al. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. *New Engl J Med* 2007;357(18): 1810–20.
- 100.** Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Eng J Med*. 2006;355(1): 11-20.

101. Wagner AD, Unverzagt S, Grothe W, et al. Chemotherapy for advanced gastric cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;(3):CD004064

102. Van Cutsem E, Moiseyenko VM, Tjulandin S, et al. Phase III study of docetaxel and cisplatin plus fluorouracil compared with cisplatin and fluorouracil as first-line therapy for advanced gastric cancer: a report of the V325 Study Group. *J Clin Oncol* 2006;24(31): 4991-4997.

103. Motojima K, Furui J, Kohora N. C-erbB-2 expression in well differentiated adenocarcinoma of the stomach predicts shorter survival after curative resection. *Surgery* 1994;115: 349-354.

104. Mizutani T, Onda M, Tokunaga A, Yamanaka N, Sugisaki Y. Relationship of c-erbB-2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. *Cancer* 1993;72: 2083–2088.

105. Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A et al. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short-term prognosis in gastric cancer. *Cancer Res* 1991;51: 1034–1038.

106. Risio M, De Rosa G, Sarotto I, et al. HER2 testing in gastric cancer: Molecular morphology and storage time-related changes in archival samples. *Int J Oncol* 2003;23(5): 1381–1387.

107. Sakai K, Mori S, Kawamoto T et al. Expression of epidermal growth factor receptors on normal human gastric epithelia and gastric carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1986;77: 1047–1052.

108. Yan B, Yau EX, Bte Omar SS, et al. A study of HER2 gene amplification and protein expression in gastric cancer. *J Clin Pathol* 2010;63: 839-842.

109. Kim KC, Koh YW, Chang HM, et al. Evaluation of HER2 protein expression in gastric carcinomas: Comparative analysis of 1414 cases of whole-tissue sections and 595 cases of tissue microarrays. *Ann Surg Oncol* 2011;18(10): 2833-40.

110. Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Muller W. HER2 expression in gastric cancer: rare, heterogeneous and of no prognostic value – conclusions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol* 2010;32(1–2): 57–65.

111. Park DI, Yun JW, Park JH, et al. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006;51: 1371-1379.

112. Kunz PL, Mojtahed A, Fisher GA, et al. HER2 expression in gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma in a US population: Clinicopathologic analysis with proposed approach to HER2 assessment. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012;20(1): 13-24.

113. Marx AH, Tharun L, Muth J, et al. HER-2 amplification is highly homogenous in gastric cancer. *Hum Pathol* 2009;40: 769-777.

114. Kim MA, Jung EJ, Lee HS et al. Evaluation of HER-2 gene status in gastric carcinoma using immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization and real-time quantitative polymerase chain reaction. *Human Pathol* 2007;38: 1386-1393.

115. De Vita F, Giuliani F, Silvestris N, Catalano G, Ciardiello F, Orditura M. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in gastric cancer: a new therapeutic target. *Cancer Treat Rev* 2010;36(3): 11-15.

116. Jørgenson JT. Targeted HER2 Treatment in Advanced Gastric Cancer. *Oncology* 2010;78: 26-33.

117. Kimura M, Tsuda H, Morita D, Ichikura T, Ogata S, Aida S, Yoshizumi Y, Maehara T, Mochizuki H, Matsubara O. A proposal for diagnostically meaningful criteria to classify increased epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 gene copy numbers in gastric carcinoma, based on correlation of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemical measurements. *Virchows Arch* 2004;445: 255-262.

118. Chua TC, Merrett ND. Clinicopathologic factors associated with HER2-positive gastric cancer and its impact on survival outcomes - A systematic review: *Int J. Cancer* 2012;130: 2845-2856.

119. Giuffrè G, Ieni A, Barresi V, Caruso RA, Tuccari G. HER2 status in unusual histological variants of gastric adenocarcinomas. *J Clin Pathol* 2012;65: 237-241.

120. Königshoff M, Wilhelm J, Bohle RM et al. HER-2/neu gene copy number quantified by Real-Time PCR: Comparison of gene amplification, heterozygosity, and immunohistochemical status in breast cancer tissue. *Clin Chemistry* 2003;49(2): 219-229.

121. Dabbs DJ, Klein ME, Mohsin SK et al. High false-negative rate of HER2 quantitative reverse transcription polymerase chain reaction of the oncotype DX test: An independent quality assurance study. *J Clin Oncol* 2011;29(32): 4279-4285.

122. O'Malley FP, Parkes R, Latta E et al. Comparison of HER2/neu status assessed by quantitative polymerase chain reaction and immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol* 2001;115: 504-511.

123. Baehner FL, Achacoso N, Maddala T, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 assessment in a case-control study: Comparison of fluorescence in situ hybridization and quantitative reverse transcription polymerase chain reaction performed by central laboratories. *J Clin Oncol* 2010;28: 4300-4306.

124. Kameda T, Yasui W, Yoshida K et al. Expression of ERBB2 in human gastric carcinomas: relationship between p185 ERBB2 expression and the gene amplification. *Cancer Res* 1990;50: 8002-8029.