T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

IRS1 Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp POLİMORFİZMLERİNİN GASTRİK KANSER GELİŞİMİ İLE ARASINDAKİ İLİŞKİ

Biyolog Uğur KARATAŞ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Gökhan GÖRGİŞEN

VAN-2020

Bu Tez projesi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2019-8109 numaralı proje ile desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY

T.C. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Uğur KARATAŞ tarafından ''*IRS1 Gly972Arg ve IRS2 Gly1057Asp Polimorfizmlerinin Gastrik Kanser Gelişimi İle Arasındaki İlişki*'' adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/01/2020

imza

Prof.Dr. Yasin Tülüce

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Jüri Başkanı

imza

Dr. Öğr. Üyesi Gökhan Görgişen

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Jüri Üyesi

imza

Dr. Öğr. Üyesi Suray Pehlivanoğlu

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Adı soyadı

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum "'*IRS1 Gly972Arg ve IRS2 Gly1057Asp Polimorfizmlerinin Gastrik Kanser Gelişimi İle Arasındaki İlişki*" başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim

Öğrencinin Adı Soyadı: Uğur KARATAŞ

Tarih:

İmza:

TEŞEKKÜR

Tez projesi çalışmamı hazırlarken, tez danışmanım olmayı kabul ettiği, çalışmamı planladığı, bilgi ve birikiminden çokça faydalandığım, katkılarını esirgemeyen ve her daim bana yol gösteren sayın tez danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Gökhan Görgişen'e,

Lisansüstü eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübeleri ile her zaman yanımda olan ve deneyimleri ile bana yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Yasin Tülüce, Prof. Dr. Halil Özkol ve Dr. Öğr. Üyesi Zehra Kaya'ya,

Çalışmanın istatistiksel analizlerinde yardımlarını benden esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Can Ateş'e,

Birlikte çok güzel hatıralar biriktirdiğimiz sevgili yüksek lisans arkadaşlarım Zafer Yaren, Aysun Arslan, Yılmaz Ecer, Selva Gürsoy, Mujdat Çamlı ve diğer yükseklisans arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca bana destek olan canım aileme ve özellikle merhum babama,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uğur KARATAŞ

ÖZET

KARATAŞ U, *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp Polimorfizlerinin Gastrik Kanser Gelişimi ile Arasındaki İlişki, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2020. İnsülin reseptör substrat (IRS) proteinleri, insülin reseptörü (IR) ve insülin benzeri büyüme faktör-1 (IGF-1) reseptöründen gelen sinyalleri efektör proteinlere ileten sitoplazmik adaptör proteinlerdir. IRS1 ve IRS2 insanda yaygın ekspresyon göstermektedir. IRS proteinlerinin ekspresyon artışları birçok kanserin gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Ekpsresyon çalışmalarına ek olarak, çalışmalar *IRS1* ve *IRS2* gen polimorfizmlerinin de bazı kanser türlerinin gelişimine yatkınlık yarattığını göstermektedir. *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp polimorfizmleri bu genlere ait en yaygın görülen varyantlardır. Bu çalışmada *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp polimorfizmlerinin gastrik kanseri gelişimi ile arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışmaya 100 mide kanseri ve 100 kontrol birey dahil edildi. Örneklerin, periferik kanlarından DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Tek nükleotid polimorfizmleri Taqman Assayler aracılığıyla gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlendi. İstatistiksel analiz sonucunda *IRS1* Gly/Gly genotipine göre Gly/Arg genotipinin 7,891 kat (%95 G.A: 3.251-19.154 p<0.001), Arg/Arg genotipinin ise 22.716 (%95 G.A: 6.311-81.761 p<0.001) kat daha fazla gastrik kanseri gelişimine yatkınlık yarattığı belirlendi. *IRS2* Gly1057Asp genotip analizi, Gly/Gly genotipine göre Asp/Asp genotipine sahip bireylerin 2.311 kat (%95 G.A: 0.800-6.678 p=0.122) daha fazla mide kanseri gelişimi riski olduğunu gösterse de bu değerler istatistiksel açıdan anlamlı bulunamadı. Sonuç olarak, elde ettiğimiz veriler *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp varyantlarının gastrik kanseri gelişim riskini arttırabileceğini ortaya koymaktadır. Bu sonuçların doğrulanması ve bu varyantların belirteç olarak kullanılabilmesi için daha büyük popülasyonlarda çalışılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: *IRS1*, *IRS2*, polimorfizm, mide kanseri, SNP

ABSTRACT

KARATAŞ U, Association of *IRS1* Gly972Arg and *IRS2* Gly1057Asp Polymorphisms with Gastric Cancer Development, Van Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology, M.Sc., Van, 2020. Insulin reseptor substrate (IRS) proteins are cytoplasmic adaptors that transmit the signal from insulin receptor (IR) and insulin like growth factor-1 (IGF1) receptor to effector proteins. IRS1 and IRS2 are widely expressed in human tissues. Overexpression of IRS proteins are correlated with cancer development. In addition to their expression profiles, studies have shown that polymorphisms of *IRS1* and *IRS2* also have responsible for the susceptibility to many cancer types. *IRS1* Gly972Arg and *IRS2* Gly1057Asp are the common variants of these genes. In this study, it was aimed to determine the association of *IRS1* Gly972Arg and *IRS2* Gly1057Asp polymorphisms with gastric cancer development. The study included 100 gastric cancer patients and 100 controls. Genomic DNAs were isolated from peripheral blood samples of individuals. Single nucleotide polymorphisms were detected by real time polymerase chain reactions using Taqman Assays. Statistical analyses showed that individuals with *IRS1* Gly/Arg genotype had 7.891 fold (95% CI: 3.251-19.154 $p<0.001$) and individuals with IRS1 Arg/Arg genotype had 22.716 fold (95% CI: 6.311-81.761 $p<0.001$) higher risk for gastric cancer compared to IRS1 Gly/Gly genotype. Although, *IRS2* Gly1057Asp genotype analysis showed that subjects with Asp/Asp genotype had 2,311 fold risk for gastric cancer compared to Gly/Gly genotype, it was not statistically significant (95% CI: 0.800-6.678 $p=0.122$). As a conclusion, our result showed that *IRS1* Gly972Arg and *IRS2* Gly1057Asp variations may be associated with increased gastric cancer development. Further studies with larger sample size are needed to support our findings and to use these variations as a biomarker for gastric cancer development.

Keywords: *IRS1*, *IRS2*, polymorphism, gastric cancer, SNP

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY II
ETİK BEYAN III
TEŞEKKÜR IV
ÖZET V
ABSTRACT VI
İÇİNDEKİLER VII
SİMGELER VE KISALTMALAR X
ŞEKİLLER LİSTESİ XI
TABLOLAR LİSTESİ XII
1.GİRİŞ 1
2.GENEL BİLGİLER 3
2.1. Kanser 3
2.2 Midenin Tanımı 3
2.3. Dünyada Mide Kanseri 4
2.4. Türkiye'de Mide Kanseri 5
2.5. Mide Kanserinin Patolojisi ve Sınıflaması 5
2.5.1. Makroskobik sınıflandırma 6
2.5.2.Mikroskobik sınıflandırma 7
2.6. Mide Kanserinde Çevresel Risk Faktörleri 10
2.6.1. Sigara ve alkol tüketimi 10
2.6.2. Tuzlu ve tütsülenmiş yiyecek alımı 10
2.6.3. Yaş 11
2.6.4. Cinsiyet 11
2.6.5. *Helicobacter pylori* enfeksiyonu 12
2.6.6. Düşük meyve ve sebze tüketimi 12
2.6.7. Obezite 13
2.6.8. Aile öyküsü ve mide kanseri 13
2.7. Mide Kanserinde Glukoz Metabolizması 14

2.8. IRS Proteinleri 15
2.8.1. İnsülin reseptör substrat (IRS) protein ailesi 16
2.8.2. IRS proteinlerinin moleküler yapısı 17
2.8.3. IRS proteinlerinin kanserle ilşkisi 19
2.9. Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP) 23
2.9.1.Genetik polimorfizmlerinin mide kanserindeki rolü 24
2.9.2.*IRS1* ve *IRS2* genleri ve tek nukleotid polimorfizmleri 25
2.10. Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR= Kantitatif PZR) 26
2.11. TaqMan Tekniği (Applied Biyosistem)…..…..……..……27
2.12. Hipotez ……...…….……..…28
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER 29
3.1. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Seçilmesi 29
3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar 29
3.3. Deney İçin Kullanılan Araç ve Gereçler 29
3.4. Periferal Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması 30
3.5. DNA İzolasyonu 30
3.5.1. Kit içindeki kimyasallar 30
3.5.2. DNA izolasyonunun basamakları 30
3.6. DNA Kalitesinin ve Miktarının Belirlenmesi 31
3.7. SNP Genotipleme 32
3.8. İstatistiksel Analiz 33
4. BULGULAR 34
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri ……...34
4.2. *IRS1* rs1801278 Polimorfizminin Genotip ve Alelik Frekansları……..34
4.3. *IRS2* rs1805097 Polimorfizminin Genotip ve Alelik Frekansları……36
4.4. *IRS1* rs1801278 ve *IRS2* rs1805097 Polimorfizmlerinin Birleşik Genotip Frekansları…….……...…38
TARTIŞMA VE SONUÇ……40
KAYNAKLAR……44
ÖZGEÇMİŞ.……...…….51
EKLER……52
EK1.Etik Beyan Raporu…….....……52

EK2. Tez Orijinallik Raporu……..……...53

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADC : Adeno karsinom
CDK : Siklin Bağımlı Kinaz
Dk : Dakika
DNA : Deoksiribonükleik Asit
EDTA : Etilendiamin tetraasetik asit
GDM : Gestasyonel Diyabetes Mellitus
GLUT : Glikoz Taşıyıcı
IGF-R : İnsülin Benzeri Büyüme Faktör Reseptörü
IRS1 : İnsülin Reseptör Substrat 1
IRS2 : İnsülin Reseptör Substrat 2
kD : Kilodalton
ml : Mililitre
µg : Mikrogram
mTOR : Rapamisin Memeli Hedefi
OD : Optik Yoğunluk
PKOS : Polikistik Over Sendromu
PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RT-PCR : Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Sn : Saniye
SNP : Tek Nükleotid Polirmorfizmi
µl : Mikrolitre
°C : Santigrat derece (Celcius)

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Sindirim sisteminde mide 4
Şekil 2. (a) Japon sınıflaması ve (b) Bormann sınıflaması 7
Şekil 3. Tübüler adenokarsinom 9
Şekil 4. Müsinöz adenokarsinom 9
Şekil 5. Halka hücreli karsinom 9
Şekil 6. IRS sinyal yolakları 15
Şekil 7. IRS proteinlerin şematik görünümü 17
Şekil 8. IRS proteinleri üzerinden sinyal 18
Şekil 9. IRS proteinleri farklı reseptörlerle etkileşimi 19
Şekil 10. IRS proteinlerinin fare fenotipleri üzerindeki etkisi 20
Şekil 11. IRS proteinleri çekirdekte de etkisini gösterir 22
Şekil 12. IRS proteinlerinde negatif geri bildirim 23
Şekil 13. TaqMan yönteminin şematik görünümü 28

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Japon gastroenterolojik sınıflandırması 6
Tablo 2. Bormann sınıflandırılması 6
Tablo 3. Lauren ve WHO'ya göre mide kanseri sınıflaması 8
Tablo 4. IRS proteinlerinin farklı insan kanser türlerindeki ekspresyonu 21
Tablo 5. SNP genotiplemede kullanılan primer dizileri..... 32
Tablo 6. SNP genotipleme reaksiyon içeriği 32
Tablo 7. Kantitatif-PZR sıcaklık değerleri (Sn; saniye, dk; dakika)..... 33
Tablo 8. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri 34
Tablo 9. *IRS1* polimorfizminin demografik dağılımı..... 35
Tablo 10. *IRS1* polimorfizminin alelik dağılım 35
Tablo 11. *IRS1* polimorfizminin genotip frekansı..... 36
Tablo 12. *IRS2* polimorfizminin demografik dağılımı..... 37
Tablo 13. *IRS2* polimorfizminin alelik dağılımı 37
Tablo 14. *IRS2* polimorfizminin genotip frekansı..... 38
Tablo 15. *IRS1* ve *IRS2* polimorfizmlerinin beraber genotip frekansları..... 39

1. GİRİŞ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalması ve bölünmesi sonucu ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalıktır. Bu multifaktöriyel hastalığa, genetik ve çevresel faktörlerin sebep olduğu bildirilmiştir (National, 2019).

Mide kanseri, dünya genelinde ölümcül olan kanserler arasında üçüncü sırada yer almaktadır (McLean, 2014). Mide kanseri de diğer kanser türlerinde olduğu gibi birçok çevresel ve genetik faktörlerin önemli rol oynadığı kanser türlerindendir. Genetik temeli tam olarak aydınlatılmış değildir. Genetik biyobelirteçlerin olmaması mide kanserinde kişiye özgü tanı ve tedavi metodlarının geliştirilmesinde zorlukların yaşanmasına neden olmaktadır.

Mide kanseri diğer kanser türlerinde olduğu gibi hücresel sinyal yolaklarındaki bozukluklar ve genomik değişimler sonucunda meydana gelmektedir. Mide kanseri gelişiminde glukoz metabolizmasındaki bozukluklar ön plana çıkmaktadır. İnsülin ve insülin benzeri büyüme faktörü sinyal yolaklarında temel rol oynayan GLUT1, AKT, ERK, IGF-1R ve mTOR gibi proteinlerin ekspresyonlarındaki artışların mide kanseri hücrelerinin çoğalması ve metastazıyla doğrudan ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Yuan, 2016).

Mide kanserinde IGF-1R ekspresyon artışı lenf nodu metastazı, kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Gryko, 2014). IGF1-R'nin *in vivo* ve *in vitro* ortamda inhibisyonunun AKT ve MAPK aktivasyonlarını azaltarak mide tümör hücre proliferasyonunun düşürdüğü; ayrıca anjiyogenezi ve lenfanjiyogenezi de inhibe ettiği saptanmıştır (Li ve ark., 2011; Min ve ark., 2005).

IRS proteinleri, hücresel yanıt elde etmek için İnsülin Reseptörü (IR) ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktör1 (IGF-1) reseptörlerinden gelen sinyalleri efektör proteinlere ileten sitoplazmik adaptör proteinlerdir (White, 2002). Bu proteinlerin gerek kanserin başlangıç aşamasında gerekse de kanserin metastatik ilerlemesinde etkili oldukları çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Luo ve ark., 2014). İnsülin reseptör substrat ailesi dört üyeden oluşur (IRS1- IRS4) (Dearth ve ark., 2007). Bunlardan IRS1 ve IRS2 insanda çoğu dokuda ekspresyon göstermektedir. *IRS1* ve *IRS2* genlerinde yaygın olarak

görülen *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp varyasyonlarının endometrium, meme ve over kanseri gibi farklı kanser tiplerinin gelişimine yatkınlık yarattığı gösterilmiştir.

Tez projemizde; mide kanseri gelişimi ile *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçlamaktayız. Çalışmamız sonucunda elde edilecek sonuçlar, populasyonumuza özgü ilgili polimorfizmlere ait genomik profili ortaya koyacaktır. Ayrıca bu veriler, ilgili varyasyonların hastalığın gelişimindeki rolünü belirleyecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser, genetik bir hastalıktır. Hücrelerin, büyümesini ve bölünmesini kontrol eden genlerdeki (*BRCA1*, *BRCA2* ve *p53* vb.) değişimlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (National, 2019). Hücrede genomik profilde meydana gelen değişimler hücrelerin kontrolsüz bölünmesini, kanserin başlamasını ve ilerlemesini hızlandırmaktadır (Shahhoseini ve ark., 2017).

Kanser gelişiminde, genetik yatkınlığın yanı sıra çevresel faktörlerin de (UV, sigara, alkol, obezite, çeşitli kimyasallar vb.) önemli rol oynadığı bilinmektedir (Parsa, 2012).

Proto-onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve DNA onarım genleri kanser gelişiminde rol alan 3 ana gen grubudur (National, 2019);

Proto-onkogenler, normal hücrelerin büyümesinde ve bölünmesinde rol oynar. Bu genlerdeki genomik değişimler veya bu genlerin normalden fazla aktive olması hücrelerin anormal büyümesine sebebiyet vermektedir. Bu değişimler sonucunda proto-onkogenler onkogenlere dönüşmektedir (National, 2019).

Tümör baskılayıcı genler, hücre büyümesini ve bölünmesini kontrol altına alırlar. Tümor baskılayıcı genlerde meydana gelen değişiklikleri içeren hücreler anormal bölünerek tümör oluşturur (National, 2019).

DNA onarım genleri, hasar görmüş veya yanlış eşleşmiş DNA'nın onarımı ve sabitlenmesini sağlar. Bu genlerde herhangi bir mutasyon oluştuğunda DNA onarımı gerçekleşmez. Dolayısıyla hasarlı DNA onarılmadığından kanser gelişmektedir (National, 2019).

2.2. Midenin Tanımı

Mide, yemek borusu ile ince bağırsak arasında bulunan, sindirim sisteminin bir organıdır. Alınan yiyeceklerin fiziksel olarak parçalanmasını sağlar. Yiyeceklerin sindirimi için enzim ve mide asidini salgılar. Ayrıca B_{12} vitaminin emilimi için salgı

oluşturur. Mide, epitel hücreleri ve bezlerinden oluşan bir mukoza ile kaplıdır (Rawla ve Barsouk, 2019).



Şekil 1. Sindirim sisteminde mide (Hoffman, 2009).

2.3. Dünyada Mide Kanseri

Mide kanseri, 2018 yılında GLOBOCAN verilerine göre, akciğer ve kolorektal kanserinden sonra ölüme sebebiyet veren kanserler arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Her yıl dünya genelinde bir milyonun üzerinde yeni mide kanseri vakası tespit edilmektedir (Rawla ve Barsouk, 2019). 2018 yılında yaklaşık 783.000 kişi mide kanserinden öldüğü saptanmıştır (Rawla ve Barsouk, 2019).

Dünya genelinde mide kanserine yakalanma riski erkeklerde % 1,87 iken kadınlarda bu oran % 0,79 olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla mide kanserinin erkeklerde daha yaygın olduğu belirlenmiştir (Rawla ve Barsouk, 2019).

Mide kanseri en çok, Doğu Asya, Doğu Avrupa ve bazı Orta Amerika ülkelerinde görülmektedir. En az olarak ise Afrika ülkelerinde ve Kuzey Amerika'da görülür (Dong ve Thrift, 2017). Dolayısıyla mide kanserinin en fazla gelişmekte olan ülkelerde (Doğu Asya'da özellikle Çin'de) görüldüğü söylenebilmektedir (Rahman ve ark., 2019). Sonuçlara göre batı ülkelerinde mide kanseri insidansı büyük ölçüde azalmış olsa da, hala Asya'da en yaygın görülen kanserlerden biridir (Cheng ve ark., 2016).

2.4. Türkiye'de Mide Kanseri

Türkiye'de kansere bağlı ölümlerde, en sık görülen beş kanser türünde mide kanseri dördüncü sırada yer alır (Güner, 2017). Yılda 9000'e yakın kişiye mide kanseri teşhisi koyulduğu belirtilmiştir (Gültekin, 2016). Ülkemizde mide kanserinden ölüm oranı Avrupa ülkeleri arasında en yüksek orana sahiptir. Türkiye'de bölgeler arasında da mide kanseri görülme sıklığı farklılık göstermektedir. Doğu bölgesi, batı bölgesi ile karşılaştırıldığında daha fazla sayıda mide kanseri vakası olduğu saptanmıştır (Güner, 2017).

Ülkemizde mide kanseri cinsiyet açısından bakıldığından, erkeklerde görülme sıklığı kadınlara oranla daha fazladır (Yalçın, 2009).

Mide kanserinde, yaşın da önemli bir faktör olduğu saptanmıştır. Tanı alma yaş ortalalamasının 64 olduğu belirtilmiştir (Gültekin, 2016).

2.5. Mide Kanserinin Patolojisi ve Sınıflaması

Mide kanseri, hastalık seyri kötü olan ölümcül bir hastalıktır. Mide kanserinin histolojik ve moleküller özelliklerini temel alan bir sınıflandırma sistemi, her alt tipin özelliklerinin daha iyi anlaşılması için önem taşımaktadır. Özellikle moleküler temele dayalı sınıflandırma sistemi erken tanı, kanseri önleme ve tedaviye dayalı yöntemlerin geliştirilmesine yardımcı olur (Hu ve ark., 2012).

Mide kanserinin birçok alt tipi bulunmaktadır. Bu alt tiplerin çoğunluğunu (yaklaşık %90) mide mukozasının bezlerinde bulunan adenokarsinomlar oluşturmaktadır. Ayrıca adenokarsinomaların yanı sıra mukoza ve mide kasları ile ilişkili lenfoid dokulardan kaynaklandığı görülen farklı alt tipler de bulunmaktadır (Cheng ve ark., 2016).

Dünya genelinde mide kanseri için birden fazla sınıflandırma mevcuttur;

2.5.1. Makroskobik sınıflandırma

Japon Gastroenterolojik Derneği tarafından tanımlanan makroskopik sınıflandırmaya göre mide kanseri 3 tiptir;

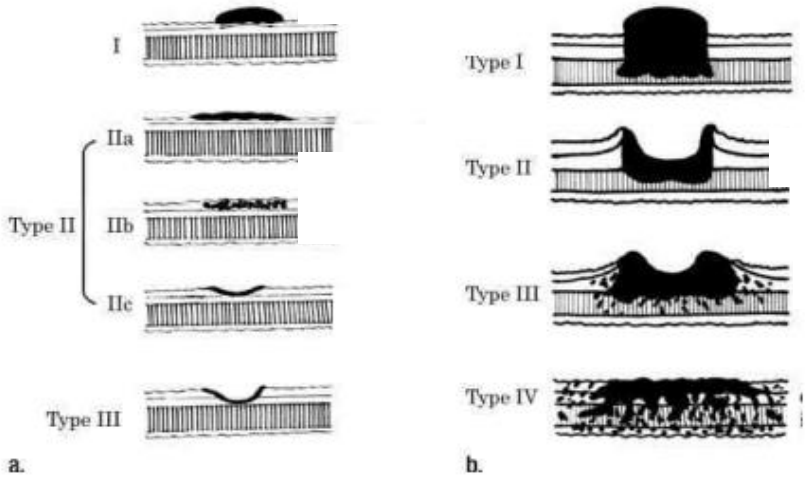
Tablo 1. Japon gastroenterolojik sınıflandırması (Lazar, 2013).

Tip I (Çıkıntılı)	Polipoid tümörler.
Tip II (Yüzeysel)	Mukozada düzensiz görünüm oluşturan tümör tipler.
Tip IIa (Yüzeysel yükseltilmiş)	Hafif yükselmiş tümörler.
Tip IIb (Yüzeysel düz)	Yüksekliği veya çöküntülü olmayan tümörler.
Tip IIc (Yüzeysel çöküntü)	Hafif depresif tümörler.
Tip III (Kazılmış)	Derin çöküntülü tümörler.

İleri mide tümörlerinin makroskopik sınıflandırılmasında kullanılan borman sınıflandırılmasına göre 4 gruba ayrılmaktadır:

Tablo 2. Bormann sınıflandırılması (Lazar, 2013).

I.Tip: Polipoid	İyi durumlu sınırlı polipoid tümörler (%7)
II.Tip: Fungatif	Belirgin infiltrasyona sahip fungal tümörleri (%36)
III.Tip: Ülserli	İnfiltratif marjlı ülserli tümörler (%25)
IV.Tip: İnfiltrasyon	Yaygın olarak infiltre edilmiş tümörler (%26)



Şekil 2. (a) Japon sınıflaması ve (b) Bormann sınıflaması (Demirci, 2010).

2.5.2. Mikroskobik sınıflandırma

Günümüzde en çok kullanılan mikroskobik sınıflandırma Lauren ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırmasıdır.

Lauren mide kanser sınıflandırması tüm sınıflandırma sistemleri arasında en sık kullanılan ve gastrik adenokarsinom üzerinde en çok çalışılan sınıflandırma olmuştur. Lauren sınıflandırması; bağırsak tip, dağınık (diffüz) tip ve nadir görülen belirsiz tip olmak üzere 3 gruba ayrılır (Berlth ve ark., 2014).

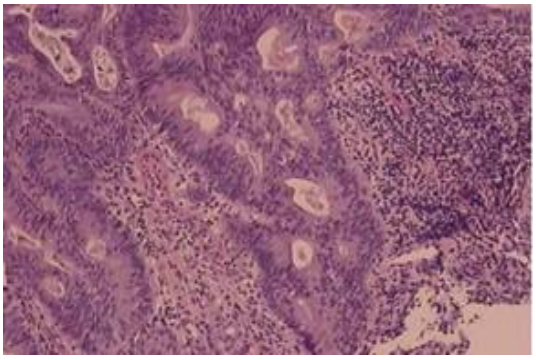
Mide kanserinde görülme sıklığı bağırsak (İntestinal) tip için yaklaşık %54, dağınık (diffüz) tip için %32 ve belirsiz tip için %15 tir. İntestinal adenokarsinomanın, intestinal metaplazi ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Hu ve ark., 2012).

2010 yılında yayınlanan WHO sınıflandırmasının, tüm patohistolojik sınıflandırma sistemleri arasında en ayrıntılı sınıflandırma sistemi olduğu belirtilmiştir. WHO'ya göre mide kanseri, daha çok adenokarsinom ve az sayıda diğer mide tümör alt tiplerinden oluşmaktadır. Mide adenokarsinom tipi, Lauren sınıflamasındaki belirsiz tip ile karşılaştırılabilen, papiller, tübüler, müsin ve karışık karsinom dahil olmak üzere birkaç alt gruba ayrılır (Hu ve ark., 2012).

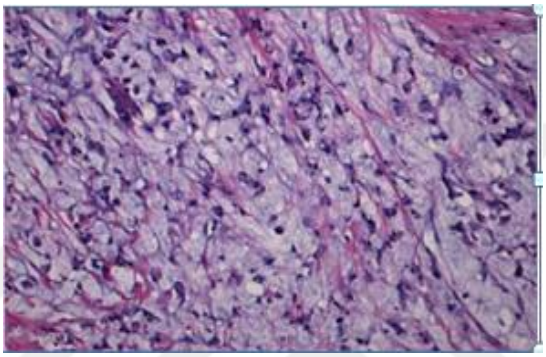
Tablo 3. Lauren ve WHO' göre mide kanserinin sınıflaması (Hu ve ark., 2012).

Lauren (1965)	WHO (2010)
İntestinal tip	Papiller adenokarsinom Tübüller adenokarsinom Musinöz adenokarsinom
Diffüz tip	Taşlı yüzük hücreli karsinom
Belirsiz tip	Karışık karsinom
	a. Adenoskuamöz karsinom b. Skuamöz hücreli karsinom c. Hepatoid adenokarsinom d. Lenfoid stroma ile birlikte olan karsinom e. Koryokarsinom f. Karsinosarkom g. Parietal hücreli karsinom h. Malign rabdoid tümör i. Mukoepidermoid karsinom j. Paneth hücre karsinoması k. Farklılaşmamış karsinom l. Karışık adeno-nöroendokrin karsinomu m. Endodermal sinüs tümör n. Embriyonel karsinom o. Onkositik adenokarsinom

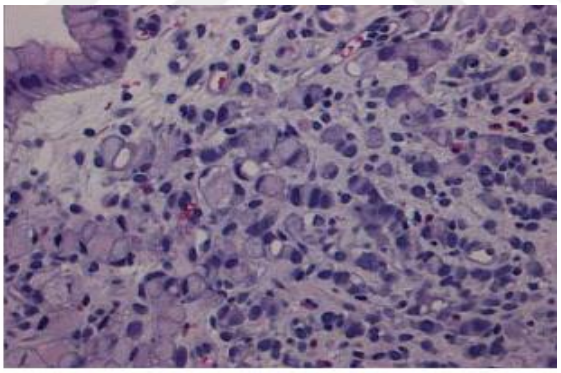
Lauren ve WHO'ya göre mide kanseri sınıfladırılması Tablo 3'te görüldüğü gibidir. Ayrıca WHO'ya göre, tübüller adenokarsinom, musinöz adenokarsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom (halka hücreli karsinom), Şekil 3, 4 ve 5'te görülmektedir (Hu ve ark., 2012).



Şekil 3.Tübüler adenokarsinom (Hu ve ark., 2012).



Şekil 4. Müsinöz adenokarsinom **(**Hu ve ark., 2012).



Şekil 5. Halka hücreli karsinom (Hu ve ark., 2012).

Mide kanseri de diğer kanser türlerinde olduğu gibi çevresel ve genetik faktörlerin etkisinde olan kompleks bir hastalıktır (Cheng ve ark., 2016).

2.6. Mide Kanserinde Çevresel Risk Faktörleri

2.6.1. Sigara ve alkol tüketimi

Çevresel risk faktörlerinde çeşitli zararlı alışkanlıklar mide kanseri gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Sigara ve alkol alımının, mide kanseri için önemli bir risk faktörü olduğu dikkat çekmektedir. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun mide kanseri gelişimindeki rolü, ile ilgili yapılan bir çalışmada, sigaranın mide kanseri için büyük risk olduğu belirlenmiştir (Cheng ve ark., 2016).

Şangay'da mide kanseri üzerine yapılan çalışmada, sigara ve alkol kullananların sigara ve alkol kullanmayanlara göre mide kanserine yakalanma riskinde %80'lik bir artışın olduğu saptanmıştır (Cheng ve ark., 2016). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC, 2002), sigara kullanımının mide kanserine neden olduğuna karar vermiştir (Ramos ve ark., 2017).

Birçok çalışma, tütün ürünlerinin, mide kanser riskini arttırdığını doğrulamıştır. Fazla sigara tüketen bireylerin (günde> 20 sigara) mide kanserine yakalanma riskinde belirgin derecede artışın olduğu saptanmıştır (Sitarz ve ark., 2018).

Global mide kanseri vakalarının %11' inin ve Avrupa' daki vakaların %17' sinin sigara tüketimiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışma nargile ve afyon kullanımının mide kanseri ve kanser öncesi lezyonlar için risk faktörleri olduğunu göstermiştir (Rawla ve Barsouk, 2018).

Alkol tüketimi ve alkol bağımlılığı ile mide kanseri arasındaki ilişki yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Sitarz ve ark., 2018). Özellikle kardiyak olmayan adenokarsinomlar için, aşırı alkol kullanımının önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir (Tramacere ve ark., 2011). Alkolün, mide zarını tahriş ettiği ve aşındırarak mide kanserine yol açan gastrite neden olduğu bilinmektedir (Rawla ve Barsouk, 2018).

2.6.2. Tuzlu ve tütsülenmiş yiyecek alımı

Dünya Kanser Araştırma Fonu Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (WCRF / AICR), tuz ve tuzda saklanmış, tütsülenmiş balık, et ve tuzlanmış sebzeler gibi gıdaların

mide kanserine neden olabileceğini bildirmiştir (Karimi ve ark., 2014). *H. pylori* ve tuz tüketimi arasında da önemli bir ilişki vardır. Aşırı tuzlanmış gıdalar, *H. pylori* enfeksiyon riskini arttırmaktadır (Göral, 2015). Böylece *H. pylori'*nin mide tümör hücrelerinde cagA gen ekspresyonunu artırarak kanser ilerlemesini hızlandırdığı önceki çalışmalarda ortaya konmuştur (Cheng ve ark., 2016).

Yapılan araştırmalar sonucunda yüksek miktarda tuz alımının mide kanseri riskini %22 arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, Kore'deki büyük bir kohort çalışmasında tuzlu yiyecekleri tercih eden kişilerde mide kanseri riskinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Karimi ve ark., 2014). Dolayısıyla yüksek miktarda tuz kullanımının, mide kanseri için büyük bir risk olduğu literatür çalışmaları ile tespit edilmiştir.

2.6.3. Yaş

Mide kanser insidansı yaşla birlikte giderek artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2005 ile 2009 yılları arasında teşhis edilen vakaların yaklaşık %1' inin 20 ile 34 yaş arasında, %29'unun 75 ile 84 yaş aralığında olduğu tespit edilmiştir (Karimi ve ark., 2014).

Meksika'da yapılan bir çalışmada mide kanseri en sık 50 ile 70 yaşları arasındaki kişilerde gözlenmiştir. Mide kanseri, farklı yaşlarda farklı davranışlar gösterir. Yaş, tanıda gecikme, tümörün davranışı ve hastalığın prognozunda en önemli faktörlerden biri olarak görülmektedir (López Basave ve ark., 2013).

2.6.4. Cinsiyet

Kadınlara kıyasla erkeklerde mide kanser riski daha yüksektir. Bu farklılığın temel sebebi tam belirlenememiş olmakla beraber, çevresel veya mesleki risklerin mide kanseri üzerinde rol oynayabileceği belirlenmiştir (Karimi ve ark., 2014). Ayrıca erkeklerin geçmişten günümüze tütün ürünlerini kullanmaları kadınlara göre daha fazla olması mide kanseri nedeni olarak düşünülmüştür (Karimi ve ark., 2014). Cinsiyet kaynaklı farklılığın diğer bir nedeni fizyolojik değişkenlerdir. Örneğin; kadınlarda östrojen, mide kanseri gelişim riskini azaltmaktadır. Ayrıca gecikmiş menopoz ve doğurganlığın artması, mide kanser gelişim riskini azaltan diğer nedenlerdir.

Tamoksifen gibi anti östrojenik ilaçların ise mide kanseri gelişim riskini arttırdığı belirlenmiştir (Karimi ve ark., 2014).

2.6.5. *Helicobacter pylori* enfeksiyonu

H. pylori, insan midesine, erken yaşta yerleşip koloni oluşturan gram negatif mikroaerofilik spiral şekilli bir bakteridir (Song ve ark., 2014). Düşük pH ortamında canlılığını korur ve koloni oluşturduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda, insan mide mukoza hücrelerine tutunma ve lokalize olma yeteneğine sahip olduğu da bilinmektedir (Demiray Gürbüz ve Yılmaz, 2011). Gelişmekte olan ülkelerde %50'lik prevalansı ile dünyada en yaygın görülen enfeksiyonlardan biri olduğu tespit edilmiştir. WHO'ya göre *H. pylori* insanlarda mide kanserine neden olan temel faktördür. *H. pylori* ile enfekte olmuş bireylerin, ek olarak genetik duyarlılığı olan bireylerde, sigara ve alkol tüketimi gibi çevresel faktörlerin etkisi ile mide kanseri gelişim riskini arttırmaktadır (Ramos ve ark., 2018).

H.pylori gastrit, mide ülseri, mide kanseri ve mukoza ilişkili lenfoit doku lenfoması oluşumunda önemli bir risk faktörüdür (Demiray Gürbüz ve Yılmaz, 2011).

H. pylori enfeksiyonunun özellikle midenin alt (distal) kısmındaki kanserlere neden olduğu belirlenmiştir. Bu bakterinin midede uzun süreli enfeksiyona, enflamasyona (kronik atrofik gastrit) ve midenin iç kısmında değişikliklere neden olarak kanser oluşturabileceği tespit edilmiştir (Karim ve ark., 2014).

Son zamanlarda yapılan birçok çalışma, *H. pylori* enfeksiyonunun, mide kanserinin gelişimi için kesin bir risk faktörü olduğunu saptamıştır (Sekikawa ve ark., 2014).

2.6.6. Düşük meyve ve sebze tüketimi

2007 yılında Dünya Kanser Araştırma Fonu / Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (WCRF / AICR)'nün raporunda özellikle allium sebzeler de dahil olmak üzere nişastalı olmayan sebze ve meyvelerin mide kanserine karşı koruduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu raporda 50 g / gün allium sebze alımının mide kanseri riskini %23 azalttığı da vurgulanmıştır. Meyve ve sebzeler, ksenobiyotik ve metabolize edici enzimleri modüle

ederek karsinojenezi inhibe edebilen C vitamini, folat, karotenoidler ve fitokimyasalların zengin kaynağı olduğundan mide kanserine karşı koruma sağlamaktadır (Karimi ve ark., 2014).

Gastrointestinal kanserler ve çeşitli kanser prevalansını azaltmak için yeterli meyve ve sebze alımının önemli olduğu belirtilmiştir. Klinik çalışmaların bir meta-analizinde, sebze ve meyveler açısından zengin ve sağlıklı beslenmenin mide kanseri üzerinde olumlu bir etki yarattığı tespit edilmiştir. Diyetle meyve ve sebze alımını arttırmalı ve tuz veya tuzlanmış gıdaların tüketimini azaltması gerektiği vurgulanmıştır (Cheng ve ark., 2016).

2.6.7. Obezite

Obezite, modern toplumlarda artan bir sorundur. Özellikle kardiyak mide kanseri de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar ile ilişkisi olduğu bilinmektedir. Karın bölgesi yağlanmasının doğrudan yemek borusu kanseri ve kardiyak mide kanseri için bir risk faktörü olabileceği saptanmıştır (Karimi ve ark., 2014).

Dünya genelinde, istatistiksel meta-analiz sonucuna göre vücut kitle indeksi fazla olan bireylerin (25 kg / m olan tespit) mide kanserine yakalanma riskinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (Rawla ve Barsouk, 2018). Obezitenin, tümör nekroz faktörü-alfa (*TNF-alfa*), interlökin-6 (*IL-6*) ve monosit kemoatraktan protein-1 (*MCP-1*) genlerini aktive edebileceği belirlenmiştir. Aşırı et tüketimi, meyve ve sebzelerin ise az tüketilmesi obeziteye ve dolayısı ile kansere yakalanma riskini de arttırabilmektedir (Rawla ve Barsouk, 2018).

2.6.8. Aile öyküsü ve mide kanseri

Ailede mide kanseri öyküsü de güçlü bir risk faktörüdür. Mide kanserlerinin yaklaşık %10'unun ailesel olduğu gösterilmiştir (Choi ve Kim, 2016). Ailesinde mide kanseri hikayesi olan kişilerde mide kanser riski yüksek olduğu yapılan çeşitli araştırmalarla tespit edilmiştir. Her ne kadar mide kanseri oranları dünya genelinde farklı coğrafyalarda farklılık gösterse de aile öyküsünün mide kanseri için bir risk faktörü olarak dünyanın her yerinde mevcut olduğu bildirilmiştir (Choi ve Kim, 2016).

Ailesinde mide kanseri öyküsü olan, yeterli tıbbi tedavi ile iyileşemeyen ülser semptomları veya ülser tanısı almış olan hastalarda, erken tanı için biyopsi ile panendoskopi yapılması gerektiği bildirilmiştir. Ülser teşhisi konulan hastaların mide kanserine yakalanma riski daha fazladır. Dolayısıyla, panendoskopi erken tanı için ve genç hastaların sağkalım oranlarını arttırabilen önemli bir işlemdir. Dünyanın farklı bölgelerinde yapılan vaka kontrol çalışmalarında, aile öyküsünde birinci derece akrabalarında mide kanseri olan vakaların mide kanser gelişimi riskinin genel popülasyona göre 20 kat daha fazla olduğu görülmüştür (Choi ve Kim, 2016).

2.7. Mide Kanserinde Glukoz Metabolizması

Normal hücrelerde, glikoliz basamağında glikoz pirüvata kadar parçalanır. Sonrasında pirüvat mitokondride aerobik fosforilasyonla tamamen okside edilip CO_2 elde edilir. Aneorobik koşullarda ise pirüvat mitokondriye geçemeyerek sitozolda laktata dönüştürülür. Otto Warburg, normal hücrelerden farklı olarak kanser hücrelerinde anormal glikoz metabolizmasını gözlemlemiştir. Tümör hücreleri glikozu aerobik ortamda laktata dönüştürür. Bu olay "Warburg etkisi" ya da "Aerobik Glikolizis" olarak adlandırılır (Hanahan ve Weinberg, 2011).

Normal hücreler sadece dinlenme evresinde enerji üretirken, kanser hücreleri, anormal metabolik özellikler göstererek sürekli enerji ürettiği saptanmıştır. Tümör hücreleri Warburg etkisiyle glikoz alımındaki artış sayesinde nükleozitlerin ve aminoasitlerin üretimine katkıda bulunmakta ve enerji üretimi için hızlı bir yol oluşturduğu saptanmıştır (Kısaçam ve Temizer Ozan, 2017).

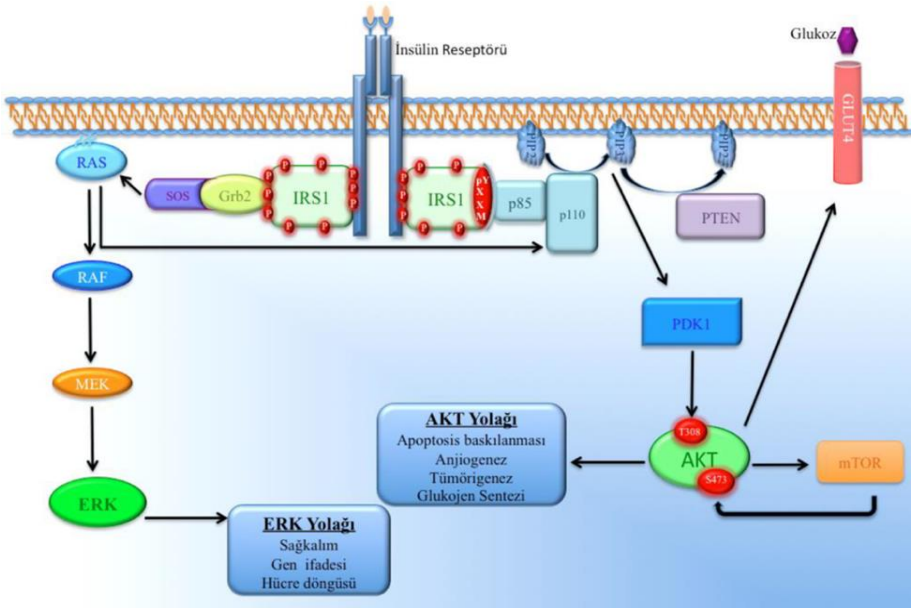
Glikoz metabolizmasındaki genomik ve/veya translasyon sonrası değişimler mide kanseri oluşma riskini tetiklemektedir (Yuan ve ark., 2016). Mide kanserinde PI3K-Akt-mTOR, MAPK ve IGFR1 aktivasyonlarında artış gözlemlenmiş olup, bu sinyal yolaklarının aktivasyonu metastaz ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir.

Değişmiş glikoz metabolizması, mide kanserine özgü metabolik yönleri hedefleyen biyobelirteçlerin tanımlanması ve mide kanserojenezine yeni bir bakış açısı sağlar (Yuan ve ark., 2016).

2.8. IRS Proteinleri

İnsülin Reseptörü Substrat (IRS) proteinleri, ilk defa insülin sinyal yolağındaki görevleri ile tanımlanan sitoplazmik adaptör protein ailesidir (Mardilovich ve ark., 2009). IRS proteinleri, hücresel bir tepki ortaya çıkarmak için insülin ve IGF-1 reseptörlerinden gelen sinyalleri hücre içerisindeki proteinlere iletirler (Shaw, 2011). Dolayısıyla sinyal komplekslerinin düzenlendiği ve hücre içi sinyal yollarının başlatıldığı bir kavşak noktası oluştururlar (Mardilovich ve ark., 2009).

IRS proteinleri, hücre dışı ortamdan hücre içi ortama transmembran reseptörler yoluyla sinyal iletimini koordine ederek hücre büyümesinde, hayatta kalmada, çoğalmada ve hücre metabolizmasının düzenlenmesinde aktif rol alırlar (Machado-Neto ve ark., 2018). IRS proteinleri insülin veya insülin benzeri büyüme faktör reseptörlerinden gelen sinyalleri iki temel yolak üzerinden iletirler. Bunlardan birincisi, Grb2, Sos, RAS ile ERK yolağıdır. Bu yolak aracılığıyla IRS proteinleri hücre sağkalımı ve hücre döngüsünde görev alan proteinlerin gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynar. Diğer yolak ise PI3K üzerinden aktive olan AKT yolağıdır. Aynı zamanda IRS proteinleri RAS proteini üzerinde de AKT yolağını aktive edebilmektedir. Bu yolak ise IRS proteinlerinin daha çok metabolik aktivitelerinden sorumludur (Görgişen ve ark., 2017).



Şekil 6. IRS sinyal yolakları (Görgişen ve ark., 2017).

2.8.1. İnsülin reseptör substrat (IRS) protein ailesi

IRS protein ailesi 4 üyeden oluşur (IRS1-4). İnsülin stimülasyonuna cevap olarak anti-fosfotirozin immünoblotlarında 185 kD ağırlığında bir fosfoprotein olarak tanımlanan IRS1, ailenin ilk tanımlanan üyesidir. İnsülinin etki mekanizmasında ve hücre proliferasyonunda önemli bir rol oynar (Mardilovich, 2009).

IRS2 ise IRS1 susturulmuş farelerden üretilmiş hücrelerde, insülin yanıtına bağlı olarak aktive olan ve başlangıçta 4PS olarak adlandırılan alternatif bir insülin reseptörü substratı olarak keşfedilmiştir (Zhao ve ark., 2012). IRS2, insülin sinyalinde, beta hücre gelişiminde ve hücrenin hayatta kalmasında önemli rol oynamaktadır (Bodhini ve ark., 2007). Fonksiyonel olarak IRS2, hücrede IRS1 eksikliğinde IRS1'in görevlerini tolere edebilmektedir (Zhao ve ark., 2012). Farelerde IRS2 proteinine bağlı olarak gerçekleşen değişimlerin tip 2 diyabete neden olduğu bildirilmiştir (Ayaz ve ark., 2014). Ayrıca IRS2'nin, tümör ilerlemesi ve metastazında önemli rol oynayabileceği belirtilmiştir (You ve ark., 2018).

IRS1 vücut büyümesini ve periferal insülin etkisini kontrol ederken, *IRS2* vücut ağırlığını ve glukoz dengesini kontrol etmektedir (Çayan ve ark., 2010). *IRS1* geni susturulmuş fareler glukoz intoleransı gösterirken diyabet geliştirmezler. *IRS2* geni susturulmuş farelerde ise doğumda ılımlı periferal insülin direnci ve β hücresi kütlesinde azalma meydana gelmiştir (Withers ve ark., 1998). IRS1 ve IRS2 insanda her dokuda eksprese edilir ve çoğu hücre tipinde insüline bağlı mitojenik aktivitenin ve birincil glikoz metabolizmasının düzenlenmesinin ana aracılarıdır (Shaw, 2011).

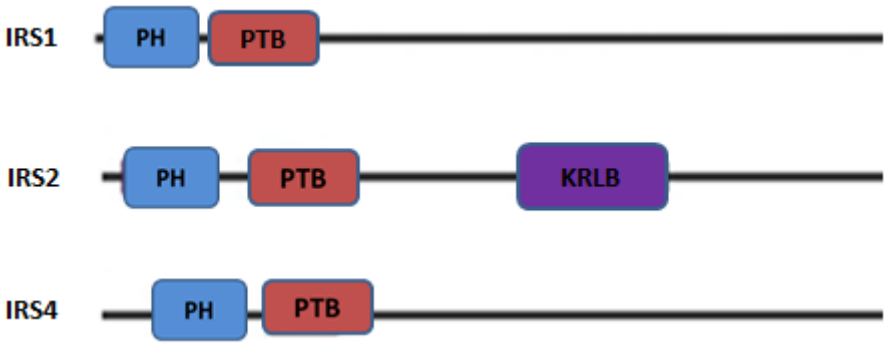
İnsanlarda fonksiyonel IRS3 bulunmaz ve psödogendir. Genellikle kemirgenlerde bulunur. Kemirgenlerde IRS3, adipositlerde, karaciğerde ve akciğerde en fazla miktarda bulunur (Boucher ve ark., 2014).

IRS4 proteini insanda sınırlı ekspresyon göstermektedir. İnsanlarda genellikle beyin, böbrek, timus ve karaciğer gibi insülinin hedef dokularında organlarda bulunur (Boucher ve ark., 2014).

2.8.2. IRS proteinlerinin moleküler yapısı

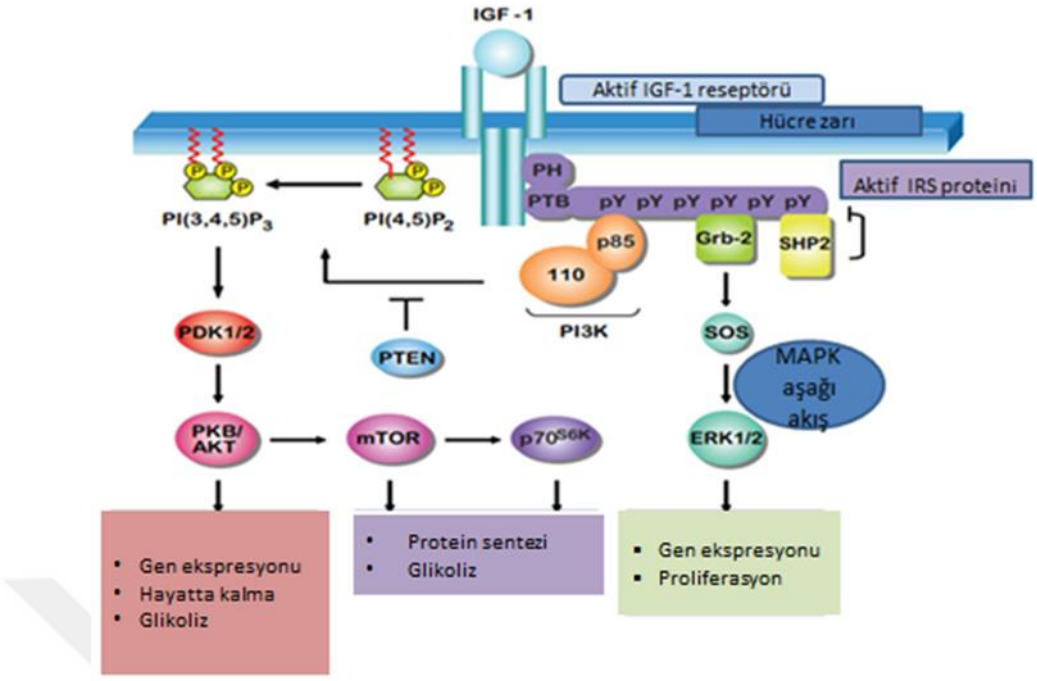
Tüm IRS proteinleri, amino terminallerinde bir PH (plekstrin homology), bir (PTB) fosfotirozin bağlanma bölgesi ve karboksi terminalinde tirozin ve serin/treonin motiflerini içeren kuyruktan oluşmaktadır (Lavin ve ark., 2016).

İnsan IRS proteinlerinin yapıları Şekil 7' de gösterilmektedir (Machado-Neto ve ark., 2018).



Şekil 7. IRS proteinlerin şematik görünümü (Machado Neto ve ark., 2018).

Bu bölgeler tirozin motiflerinden fosforile olduğunda, Src-homoloji 2 (SH2) domeyn içeren hücre içi moleküller için bağlanma alanları oluşturmaktadır (Boucher ve ark., 2014). PH alanı, IR-IRS etkileşimleri için kritik önem taşımaktadır. Plazma zarı fosfolipidleri, hücre iskeleti elementleri ve protein ligandları bu etkileşime aracılık eder (Boura-Halfon ve Zick, 2009). Amino terminalindeki (N-terminali) ikinci bölge fosfotirozin bağlanma (PTB) alanıdır (Görgisen ve ark., 2017). PTB alanları, NPXY motiflerinde tirozin-fosforile proteinlere spesifik olarak bağlanır. PTB/NPYX etkileşimi, IRS moleküllerinin insülin reseptörlerine bağlanması için gereklidir (Jacobs ve ark., 2001).



Şekil 8. IRS proteinleri üzerinden sinyal (Mardilovich ve ark., 2009).

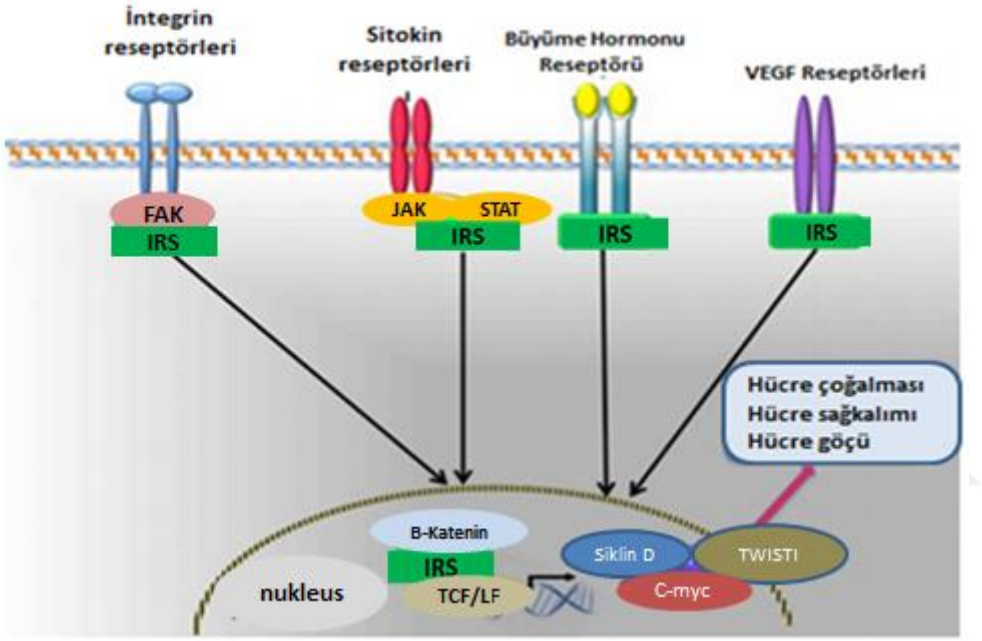
IRS proteinleri, aktive olan reseptörlere bağlandıktan sonra, C terminallerinde tirozin motifleri üzerinden fosforile edilirler. Tirozin motiflerinin (pY) fosforilasyonu, IRS1' in hedef protenleri için bağlanma alanları oluşturur. Bu bağlanma sonucunda gen ekspresyonunu, protein sentezini, glikolizi, hücre çoğalmasını ve hücre invazyonunu düzenleyebilen sinyal yolaklarının aktivasyonu gerçekleştirilir (Mardilovich ve ark., 2009)

IRS proteinlerinin C-terminallerinde bulunan tirozin fosforilasyon motiflerindeki farklılıklar, bu proteinlerin farklı sinyal yolaklarıyla etkileşime (IRS proteinlerine bağlanma özelliği olan efektörlerden bazıları PI3K, Grb-2, SHP-2, Fyn, c-Crk, CrkII ve Nck'dir) geçmesini sağlar. PH ve PTB alanları, IRS proteinlerini plazma membranına, insülin reseptörlerine ve diğer yüzey reseptörleriyle etkileşime geçmesine olanak sağladığı gösterilmişitr (Al-Salam ve İrwin, 2017).

IRS2, diğer aile elemanlarından farklı olarak kinaz düzenleyici bağlanma alanı (KRLB) tespit edilmiştir (Mardilovich ve ark., 2009).

2.8.3. IRS proteinlerinin kanserle ilişkisi

IRS proteinlerinin IR ve insülin benzeri büyüme faktörü reseptörü (IGFR) dışında vasküler endoteliyal büyüme faktör reseptörü (VEGFR), büyüme hormon reseptörü (GH), leptin, prolaktin, integrin gibi birçok reseptörle etkileşime geçebilmektedir (Şekil 9). Ayrıca IRS proteinlerinin farklı kanser tiplerinde ekpresyon artışı gözlenmesi ve hedeflediği yolakların karsinogenezi indüklemesi bu proteinlerin kanserle ilişkili olduğu göstermektedir (Görgişen ve ark., 2017).



Şekil 9. IRS proteinlerinin farklı reseptörlerle etkileşimi (Görgişen ve ark., 2017).

IRS proteinlerinin kanserle ilişkili olduğunun bir diğer kanıtı, *IRS* geni susturulmuş fare modelleri üzerinde yapılan araştırmalardır. *IRS1* geni susturulmuş fareler, normal farelerden %30 daha küçük doğmaktadırlar ve yaşamlarını kısa boylu olarak sürdürürler (Şekil 10) (Görgişen ve ark., 2017). Bu durum *IRS1*'in farelerde büyümeyi indüklediğini göstermektedir. Bu fareler insüline karşı direnç geliştirirler. Ancak normal pankreatik beta hücre sayılarını korurlar. Dolayısıyla diyabet geliştirmedikleri görülmüştür (Mardilovich ve ark., 2009).



Şekil 10. IRS proteinlerinin fare fenotipleri üzerindeki etkisi (Mardilovich ve ark., 2009).

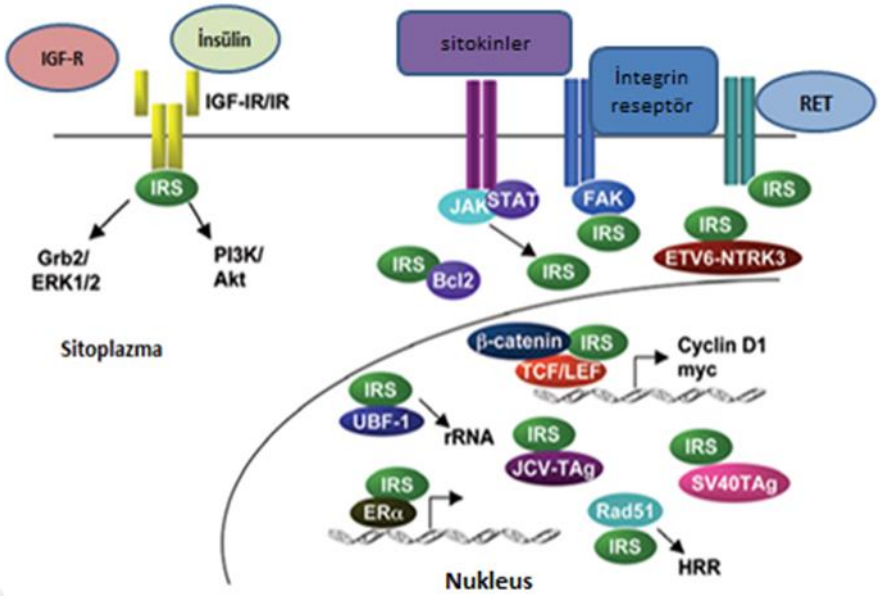
Yapılan çalışmalarda, IRS1 ve IRS4' ün tümör büyümesi ve proliferasyonla IRS2'nin ise daha çok metastazla ilişkili olduğu görülmüştür (Mardilovich ve ark., 2009). Fare meme bezinde IRS1'in aşırı ekpresyonu, meme bezinde proliferasyondan sorumluyken IRS2'nin metastazdan sorumlu olduğu gösterilmiştir (Gibson ve ark., 2007).

IRS proteinlerinin farklı kanser türlerindeki ekspresyonu değişir. Aşağıda Tablo 4'te gösterildiği gibi bazı kanser türlerinde artarken bazıların da azalır.

Tablo 4. IRS proteinlerinin farklı insan kanser türlerindeki ekspresyonu (Mardilovich ve ark., 2009).

Kanser tipi	IRS ekspresyonu	Özellikleri
Meme	↑ IRS-1	İyi farklılaşmış primer tümörler.
	↑ IRS-1	Nükleer IRS-1 iyi prognoz koreledir.
	↓ IRS-1	Zayıf farklılaşmış, yüksek dereceli tümörler
Hepatoselüler	↑ IRS-1	HCC'de mRNA / protein artar
	↑ IRS-2	HCC'de mRNA / protein artar
	↑ IRS-4	HCC'de mRNA artar
Akciğer	↓ IRS-1	Büyük (evre 1B) tümörler, skuamöz hücreli karsinom
Medulloblastoma	↑ IRS-1	Çekirdekte polyoma JCV T-antijeni ile ortak lokalizasyonu
Yumurtalık	↑ IRS-1	Malign epitelyal tümörlerde artar
Pankreas	↑ IRS-1	mRNA 7/16 tümörlerde artar
	↑ IRS-2	Duktal benzeri kanser hücrelerinde mRNA / protein artar
Prostat	↑ IRS-1	Protein, tümörlerde ve metastazlarda artar.
	↑ IRS-2	Protein artan Myc ekspresyonu ile ilişkili olarak artar

IRS proteinlerinin çekirdekte de önemli fonksiyonlara sahip olabileceği Şekil 11' de gösterilmiştir. IRS1, transforme hücre çekirdeğindeki SV40 ve JCV T antijenleri ile birlikte hareket eder (Prisco ve ark., 2008; Lassak ve ark., 2002). Herhangi bir onkojenik uyarıcıdan bağımsız olarak, IGF1 uyarımının IRS1'in nüklear lokalizasyonunu sağlayabilmektedir. Son zamanlarda, IRS1 nüklear ekspresyonundaki artış iyi farklılaşmış metastatik olmayan duktal meme kanseri ile pozitif bir ilişkilendirilmiştir (Sisci ve ark., 2006; Mardilovich ve ark., 2009) .



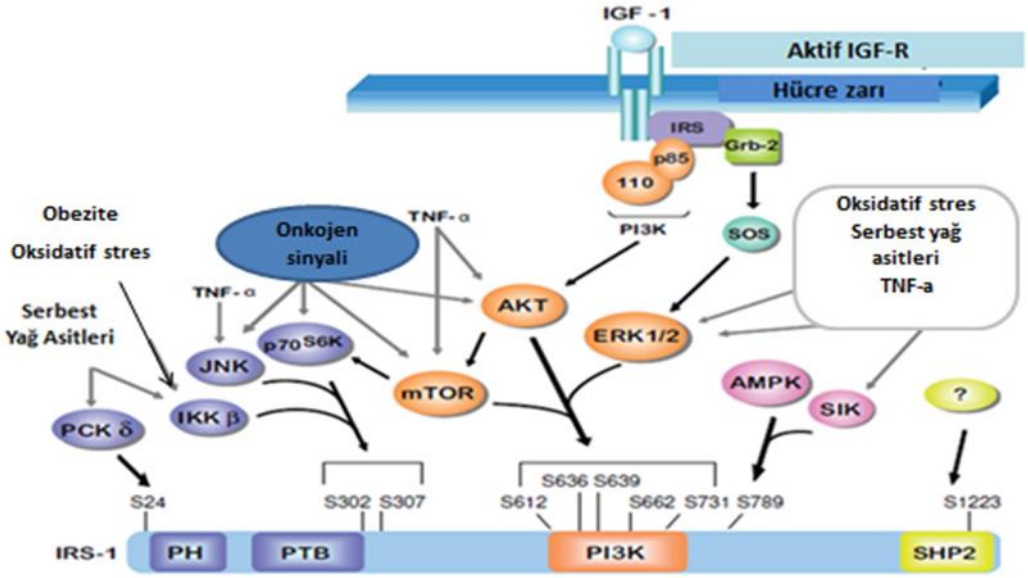
Şekil 11. IRS proteinleri çekirdekte de etkisini gösterir (Mardilovich ve ark., 2009).

Bu bulgular, IRS proteinlerinin, hücre içindeki lokalizasyonlarına bağlı olarak farklı fonksiyonlara sahip olabileceğini göstermektedir. Çekirdekteki fonksiyonu ile ilgili olarak, c-myc, Cyclin D1 ve ER hedef genleri dahil olmak üzere birçok genin promotör sekanslarında IRS' in varlığı tespit edilmiştir (Morelli ve ark., 2004 ; Wu ve ark., 2008 ; Mardilovich ve ark., 2009) .

Meme karsinomu hücrelerinde yapılan çalışmalar IRS1 ile transkripsiyon faktörleri, beta-katenin, ER-α ve androjen reseptörü (AR) arasındaki etkileşimi ortaya koymaktadır (Dearth ve ark., 2006; Morelli ve ark., 2004; Chen ve ark., 2005; Lanzino ve ark., 2009). IRS1'in β-katenin ve AR ile etkileşimleri, transkripsiyonu pozitif olarak düzenlerken, IRS1 östrojen tepki elemanları (ERE'ler) içeren genlerin ER'ye bağlı ekspresyonunu antagonize ettiği tespit edilmiştir (Morelli ve ark., 2004). Ayrıca IRS1 nükleolar transkripsiyon faktörü 1 (UBF1) ile etkileşime girer ve ribozomal RNA sentezini arttırarak RNA polimeraz aktivitesini de düzenlemektedir (Tu ve ark., 2002; Mardilovich ve ark., 2009).

IRS proteinlerinin ekspresyonu ve fonksiyonu translasyon sonrası modifikasyonlarla düzenlenebilir. Bu düzenlenim negatif geri bildirim şeklinde gerçekleşip, IRS proteinleri üzerindeki Serin/Treonin bölgelerinin fosforilasyonu aracılığıyla gerçekleşir (Şekil 12) (Mardilovich ve ark., 2009). Örneğin, 302. ve 307.

pozisyondaki serin aminoasitlerinin fosforilasyonları, IRS1'in PTB alanıyla ve yüzey reseptörleri arasındaki etkileşimleri engelleyerek IRS1'in fonksiyonunu inhibe edebilmektedir. Ayrıca serin/treonin fosforilasyonları sonucunda IRS1 tirozin motifleri üzerinden fosforile edilemez ve sinyal iletimi durur (Mardilovich ve ark., 2009).



Şekil 12. IRS proteinlerinde negatif geri bildirim (Mardilovich ve ark., 2009).

2.9. Tek Nükleotid Polimorfizmler (SNP)

Genetik çalışmalar, hastalıkların patogenezinin aydıntılmasında, tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır (Rashidi ve ark., 2012).

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), genom içinde tek bazlarda meydana gelen DNA dizisi varyasyonlarıdır. Genomda SNP'ler üzerine gerçekleştirilen aday gen ve kontrollü deney çalışmaları, yaygın ve karmaşık hastalıkların genetik temelini aydınlatmakta etkili olmuştur (Shen ve ark., 2009). DNA tamir genleri, hücre döngüsü regülasyonu, metabolizması ve bağışıklık sistemini düzenleyen genlerdeki SNP'lerin kanserle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Kansere sebebiyet veren SNP' lerin etkileri altında yatan mekanizmaları incelemek ve araştırmak çeşitli kanserlerin moleküler patogenezini tespit etmek için çok önemlidir. Klinik açıdan bakıldığında, SNP'ler birçok kanser tipinde potansiyel teşhis ve terapötik biyobelirteçlerdir (Deng ve ark., 2017).

SNP'ler, genlerin promotör, ekzon, intron bölgelerinin yanı sıra 5′ ve 3′ UTR gibi farklı bölgelerinde de bulunabilmektedir. Dolayısıyla gen ekspresyonundaki değişiklikler ve bunların kanser duyarlılığı üzerindeki etkisi SNP'lerin konumuna bağlı olarak değişmektedir (Deng ve ark., 2017).

2.9.1. Genetik polimorfizmlerin mide kanserindeki rolü

Genetik polimorfizmlerin mide kanserinde önemli rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

İnterlökin1β geni (*IL-1β*), enflamatuar yanıtın başlatılmasına ve amplikasyonuna katkıda bulunan önemli bir gen olarak kabul edilmiştir. *IL-1β* ve interlökin 1 reseptör antagonisti *(IL1RN*) genlerindeki varyasyonların mide kanseri riski ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Hu ve ark., 2007). *IL-1β*, güçlü bir proenflamatuar sitokin ve mide asidi salgılanmasında inhibitör görevi gördüğü belirlenmiştir. Ayrıca, *H. pylori* enfeksiyonda enflamatuar yanıtın değiştirilmesinde rol oynadığı saptanmıştır. Bu genlerin transkripsiyon düzenleyici bölgelerinde fonksiyonel polimorfizmler bulunmaktadır. Bu polimorfizmlerin mide kanseri gelişiminde oynadığı rolleri belirlemek için çeşitli etnik gruplarda vaka kontrol çalışmaları yapılmış ve anlamlı sonuçlara rastlanılmıştır (Cheng ve ark., 2016; Hu ve ark., 2007). *IL-1β* gen polimorfizmlerine ek olarak özellikle Asya popülasyonlarında yaygın olan *IL-17* ve *IL-10* polimorfizmleri de neoplazm riski ile ilişkilidir (Rawla ve Barsouk, 2018).

Genom çapındaki yapılan çalışmalarda, hücre yüzeyi ile ilişkili gen (*MUC1*), prostat kök hücre antijen geni (*PSCA*) ve fosfolipaz epsilon c 1 (*PLCE1*) genlerindeki tek nükleotid polimorfizlerin mide kanserinin farklı alt tipleri ilişkili olduğu görülmüştür. Çin, Kore ve Japon popülasyonlarında bu genlerin moleküler mekanizmaları araştırılmış ve polimorfizm çalışmalarının daha büyük populasyonlarda çalışılması gerektiği sonucuna varılmıştır (Cheng ve ark., 2016).

İnsan 8-oksoguanin DNA glikosilazının (*hOGG1*), mide kanseri de dahil olmak üzere karsinogenezin önlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Çin popülasyonunda, *hOGG*l deki SNP'lerin mide kanseri riski ile ilişkili olduğu görülmüştür (Lu ve ark., 2016).

Xeroderma pigmentosum grup G (XPG) proteini, zarar görmüş DNA'yı 3'ucundan keserek DNA onarımı sürecinde önemli bir rol oynar. Önceki çalışmalar *XPG* genindeki bazı polimorfizmlerin mide kanseri duyarlılığı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Chen ve ark., 2016).

Yapılan çalışmalarda, anormal mikroRNA (miRNA) ekspresyonunun mide tümörleri ve büyümesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. (Zhang ve ark., 2019). Mir146a'nın genetik polimorfizmi mide kanseri riski ile ilişkili olduğu görülmüştür (Sun ve Li, 2017).

2.9.2. *IRS1 ve IRS2* genleri ve tek nükleotid polimorfizmleri

İnsan *IRS1* geni 2q36 kromozomunda 64 kb genomik DNA'yı (gDNA) kapsar ve bir ekzon içermektedir (Esposito ve ark., 2013). İnsan *IRS1* geni 131.6 kDa ağırlığına sahip olan bir 1.242 aminoasit proteini kodlamaktadır (Lin ve ark., 2014). İnsan *IRS2* geni, 13q34 bölgesinde lokalize olan 32.732 kb gDNA'yı kapsamaktadır ve iki ekzon içerir. Bu gen 7014-bp'lik mRNA ürününü kodlar (Esposito ve ark., 2013). IRS, insülinin hücresel sinyalinde önemli bir ara madde olmakla birlikte, hücrenin temel fonksiyonunu korumada önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle IRS genlerinde herhangi bir polimorfizm, insülin sinyal yolağının bozulmasına sebep olabileceği belirlenmiştir (Huri ve ark.,2012).

IRS1 geninde bugüne kadar birçok SNP tespit edilmiştir. Bunların içinde, *IRS1* geninin en yaygın görülen polimorfizmi Gly972Arg'ın (rs1801278)'dir. Bugüne kadar birçok farklı popülasyon üzerinde yapılan çalışmalarda; *IRS1* Gly972Arg, insülin direnci, tip 2 diyabet ve polikistik over sendromu (PKOS) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lin ve ark., 2014). Gly972Arg varyantı diyabet hastalarında sık saptanmaktadır. Bu polimorfizmin diyabet patogenezinde önemli bir rolü olduğu önceki çalışmalarda görülmüştür. Ayrıca, *IRS1* Gly972Arg varyantı GDM (Gestasyonel Diyabetes Mellitus) ile ilişkili olduğu da tespit edilmiştir. Bu polimorfizmin, obezite ve insülin direnci ile arasında doğrudan bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir (Gelaleti ve ark., 2015).

İnsanda *IRS2* geninde en yaygın görülen varyasyon ise (rs1805097) Gly1057Asp değişimidir (Yükseloglu ve ark., 2014). Gly1057Asp (rs1805097) varyantı, kadınlarda polikistik over sendromu (PKOS), insülin direnci, obezite ve tip 2 diyabet duyarlılığı ile ilişkilendirilmiştir (Lin ve ark., 2014; Ayaz ve ark., 2014). Gly1057Asp polimorfizmi Tayvan popülasyonunda koroner arter hastalığı ile ilişkili görülmüştür (Chan ve ark., 2012).

IRS1 ve *IRS2* varyantlarının kanserle olan ilişkisinde çelişkili veriler elde edilmiş olsa da genellikle her iki varyant da kanser gelişimi ile pozitif ilişki içerisindedir. *IRS1* Gly972Arg varyantı over, meme ve prostat gibi kanser tiplerinin gelişimine yatkınlık yaratırken, *IRS2*'nin endometriyum ve kolorektal kanser gelişimi ile ilişkili olduğu görülmüştür (Zhang ve ark., 2013; Çayan ve ark., 2010). Bu varyantların kanserde olan etkilerinin popülasyona özgü olarak çalışılması bireysel genomik yaklaşımların geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır.

2.10. Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR=Kantitatif PZR)

Kantitatif polimeraz zincir reaksiyon (qPCR), gen ekspresyonunun gerçek zamanlı olarak saptanması ve nicelenmesinde rutin olarak kullanılabilen bir tekniktir (Hawkins ve Misafir, 2017).

Bu yöntem, reaksiyonda üssel faz olarak artış gösteren PCR ürününün doğrudan algılanmasını, amplifikasyonunu ve saptanmasını tek bir adımda birleştirir. RT-PCR tekniğinde yüksek verim, doğru ve hassas bir sonuç alınmaktadır. Az miktarda ürünlerle çalışma imkanı mevcuttur (Overbergh ve ark., 2003).

Kantitatif PCR, klinik ve temel bilimlerdeki geniş uygulamaları nedeniyle son yıllarda popüler olmuştur. Kantitatif PCR (Gerçek zamanlı PCR), spesifik nükleik asit dizilerinin (hedef nükleik asit) mevcudiyetini ve miktarını saptamanın yanı sıra dizi değişimlerinin var olup olmadığını da belirleyebilmektedir. Gerçek zamanlı PCR'ın özgüllüğünü ve doğruluğu için floresan işaretli oligonükleotit probları kullanılmaktadır. Nükleik asit amplifikasyonu ve tespiti, aynı kapalı tüplerde gerçekleştirilir, böylece sonuç ve analizler için kontaminasyon riski en aza düşürülür. Hızlı ve kısa zamanda sonuç verir (Scott ve ark., 2006). Gerçek zamanlı PCR'nin tek bir baz çifti kadar küçük

değişiklikleri ve tek nükleotid polimorfizmlerini tespit edebilmesi bunu çok faydalı bir teknik haline getirdiği belirlenmiştir (Scott ve ark., 2006).

RT-PCR'da her döngüden sonra floresan sinyalinin yoğunluğu ölçülür ve belirli bir zamanda numunedeki amplikonlar anlık DNA miktarını yansıtır. İlk döngülerde, floresan sinyal arka plandan ayırt edilemeyecek kadar düşüktür. Bununla birlikte, floresan yoğunluğunun saptanabilir seviyenin üzerine çıktığı nokta, numunedeki başlangıç DNA molekülleri sayısı ile orantılıdır. Bu noktaya nicelik döngüsü denir. Seri olarak seyreltilmiş standart numunelerden bilinen konsantrasyonlarda veya kopya numaralarıyla oluşturulan kalibrasyon eğrisine göre numunedeki mutlak hedef DNA miktarının belirlenmesine mümkündür. Ayrıca, qPCR standartlar olmadan ancak referans materyali olarak kullanılan kontrollerle yarı nicel sonuçlar da sağlayabilir. qPCR'nin numunelerdeki hedef DNA'yı saptama ve ölçmedeki olasılıklarını tam olarak anlamak için, bu yöntemin matematiksel istatistiğini bilmek gerektiği saptanmıştır (Kralik ve Ricchi, 2017).

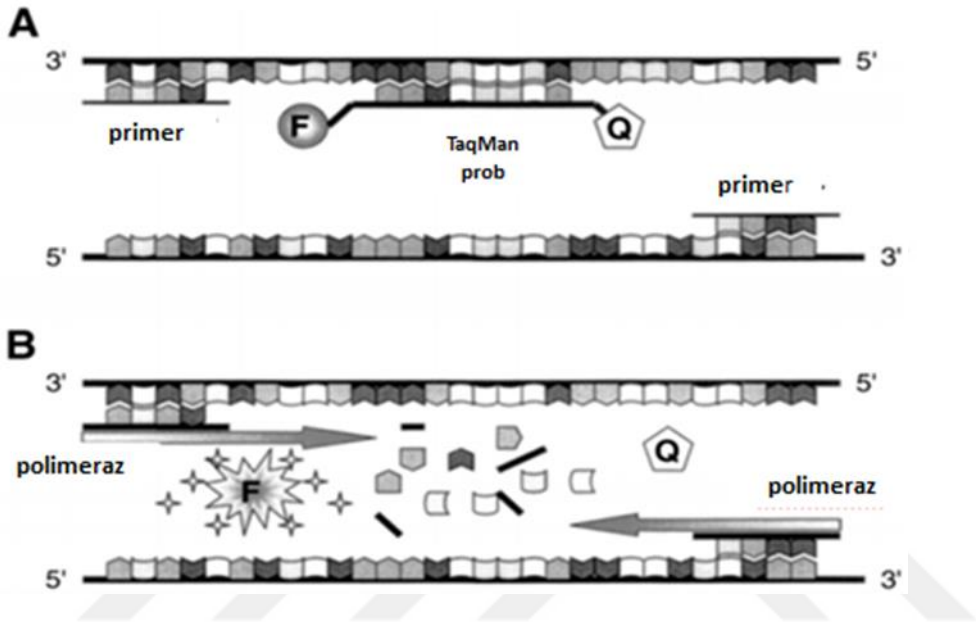
Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu, mikrobiyoloji, biyomedikal araştırma, biyoteknoloji ve adli uygulamalardaki gen analizleri için önemli bir teknoloji haline gelmiştir. Örneklem seçiminden başlayarak qPCR testinin her adımının detaylarına titizlikle dikkat edilirse, doğru ve biyolojik olarak anlamlı bir ölçüm yapmak mümkündür (Filion, 2012).

2.11. TaqMan Tekniği (Applied Biosystem)

Günümüzde SNP genotiplemesi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir olup TaqMan testi, yüksek verim ve doğrulukta, kesin, az zamanlı ve düşük maliyetli olması nedeniyle tercih edilen PCR amplikasyon teknolojisidir (Shen ve ark., 2009).

Taqman floresan probu, 5' ucuna bağlı bir florojenik boya ve 3' ucuna bir söndürücü moleküle sahip olan bir (20-30 bazdan oluşmuş) oligonükleotittir. Tamamlayıcı DNA şablonuna hibridizasyonun ardından, uzatma sırasında Taq polimerazın 5′–3′ ekzonükleaz aktivitesi ile ayrışır ve raportör boyanın floresansını serbest bırakır. Küçük oluk bağlayıcı (MGB) probları 5′ raportör boya ve 3′ floresan olmayan söndürücü (NFQ) içerir (Yao, 2006).

Şekil 13'te Taqman yönteminde, A'da primerler ve probun ilgili gen bölgesine bağlanmasını, B' de ise PCR reaksiyonunun uzama fazında Taq polimerazının 5'-3' ekzonükleaz aktivitesi ile floreasans sinyali serbest bıraktığı görülmektedir (Overbergh , 2003). Ortaya çıkan sinyal cihazdaki filtreler tarafından algılanır ve alelik diskiriminasyon grafiğine aktarılır.



Şekil 13. TaqMan yönteminin şematik görünümü (Overbergh, 2003).

2.12. Hipotez

Bu çalışmada, birçok kanser tipinin gelişiminde yatkınlık yarattığı belirlenen *IRS1* Gly927Arg ve *IRS2* Gly1057Asp varyantlarının mide kanseri ile arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Günümüzde literatürde bu varyantların tekli ya da kombinasyonel olarak mide kanseri gelişimi ile arasındaki ilişkiyi irdeleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışamızdan elde edilecek sonuçlar ilgili varyantlara ait popülasyonumuza özgü genomik profili ortaya koyarken, varyantların mide kanseri gelişimindeki rolünü de belirlemiş olacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Seçilmesi

Çalışmamız kapsamında Adana Özel Ortadoğu Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniğinde mide kanseri tanısı alan ve takibi yapılan erişkin toplam 100 Mide kanseri vakası ile, mide kanseri gelişimini etkilemeyen şikayetlerle Gastroenteroloji polikliniğine başvurmuş, ailesinde en az 3 kuşak mide kanseri vakası görülmeyen 100 erişkin birey kontrol grubu içine dahil edilmiştir.

Çalışmaya katılan tüm bireyler bilgilendirilerek onam formları alınmıştır. Çalışma protokolümüz, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından incelenerek, 09/11/2018 tarihli 08 nolu kararı ile gerçekleştirilmesi uygun bulunmuştur.

3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

1. Etanol Sigma Aldrich
2. Taqman Genotyping Master Mix (Thermo Scientific, USA)
3. Taqman Genotyping SNPAssay kit rs1801278 (Thermo Scientific, USA)
4. Taqman Genotyping SNPAssay kit rs1805097 (Thermo Scientific, USA)

3.3. Deney İçin Kullanılan Araç ve Gereçler

1. Nano drop (Thermo Scientific, USA)
2. Real Time PCR (Applied Biosystem Step One Plus, USA)
3. 96 Fast well plate (Applied Biosystem, USA)
4. Otoklav (Nüve)
5. Isıtıcı tabla (Biosan Dry Thermostat, Danimarka)
6. Vorteks (Wisemix Wellington, Yeni Zelanda)
7. Buz dolabı ve derin dondurucu (Panasonic Berlin, Almanya)
8. Soğutmalı santrifüj (Hitachi Tokyo, JAPONYA)
9. Optical Adhesive covers (Applied Biosystem, USA)

3.4. Periferal Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Periferal kan örnekleri, hasta ve kontrol gruplarının rutin tetkikleri sırasında K_3EDTA'lı steril tüplere (Venoject®) alındı. Rutin tetkik amacıyla alınan bu örneklerin 200 µl'si kullanılarak hastalardan çalışmaya özel ayrı bir kan alımı gerçekleştirilmedi. Hasta ve kontrol grupları belirli bir sayıya ulaşana kadar kanlar -20°C de saklandı.

3.5. DNA İzolasyonu

Periferal kan örneklerinden DNA izolasyonu, spin kolon santrifügasyon tekniğine dayanan Vivantis GF-1 Blood DNA Extraction (Malezya) Kiti aracılığıyla yapıldı. DNA izolasyonu aşağıdaki basamaklarda belirtildiği şekilde firma protokolüne bağlı olarak gerçekleştirildi.

3.5.1. Kit içindeki kimyasallar

1. Blood Lysis Buffer
2. Proteinaz K
3. Wash Buffer I
4. Wash Buffer II
5. Elution Buffer

3.5.2. DNA izolasyonunun basamakları

İzolasyon öncesinde, Wash Buffer I 30 ml, Wash Buffer II 80 ml absolute etanol (Sigma Aldrich, USA) ile sulandırıldı. Elution Buffer, 65 ^{o}C'de ısıtılmaya bırakıldı.

1. Kanlar -20 °C' den çıkarıldı ve oda sıcaklığında erimeye bırakıldı.
2. Kanlar eridikten sonra vortekslendi.
3. Her kan örneğinden 200 µl alınıp, 200 µl blood lysis buffer (hücre liziz tamponu) ile karıştırılarak vortekslendi.
4. Hazırlanan karışım üzerine 20 µl proteinaz K eklendi ve karışım tekrar vorteslendi.
5. Örnekler, 10 dk. 65 °C' de inkübe edildi.

6. İnkübasyon sonrasında örneklere 200 µl absolute etanol eklendi ve vortekslendi.
7. Örnekler spin kolonlara aktarıldı.
8. Spin-kolonlar 5000xg'de 1 dk. santrifüj edildi.
9. Santrifüj sonrasında toplama tüpünde oluşan supernatan uzaklaştırıldı.
10. Spin-kolona 500 µl wash buffer I eklendi ve tekrar 5000xg' de 1 dk. santrifüj edildi. Toplama tüpünde oluşan supernatan uzaklaştırıldı.
11. Spin-kolona 500 µl wash buffer 2 eklendi. Örnekler, 5000xg' de 1 dk. santrifüj edildi. Toplama tüpünde oluşan supernatan uzaklaştırıldı.
12. Spin-kolona bir kez daha 500 µl wash buffer 2 eklendi ve örnekler maksimum hızda 3 dk. santrifüj edildi.
13. Santrifüj sonunda toplama tüpü uzaklaştırıldı ve kolon yeni bir ependorfa alındı.
14. Silika filtrenin üzerine gelecek şekilde örneklerin üzerine önceden ısıtılmış 100 µl elution buffer eklendi ve oda sıcaklığında 2 dk. inkübe edildi.
15. Örnekler 5000xg'de 1 dk. santrifüj edildi.
16. Kolon uzaklaştırıldı ve DNA'lar -20 °C' de saklandı.

3.6. DNA Kalitesinin ve Miktarının Belirlenmesi

DNA'ların miktarı ve kalitesi nanodrop (Thermo scientific) ile ölçüldü. DNA'nın konsantrasyonu 260 nm'de optik yoğunluğu (OD), saflığı ise OD (260 nm)/OD (280 nm) oranı ile belirlendi. 260 nm/280 nm oranı 1,5 -1,8 aralığında olan DNA' lar saf olarak kabul edildi. Örneklerin kullanılana kadar -20 °C' de saklandı.

3.7. SNP Genotipleme

Tüm işlemler PCR kabininde gerçekleştirildi. Çalışmaya başlanmadan önce kabin içerisi ve kullanılacak malzemeler UV aracılığıyla bir kez daha steril hale getirildi.

-20 °C' de saklanan DNA örnekleri çıkarılıp buz üzerinde erimeye bırakıldı.

IRS1 geni Gly972Arg (rs1801278) ve *IRS2* geni Gly1057Asp (rs1805097) polimorfizmlerine yönelik kullanılan SNP assay kitlerine ait primer dizileri Tablo 5'da belirtilmiştir.

Tablo 5. SNP genotiplemede kullanılan primer dizileri

Gen Bölgesi	Primer Dizisi	Reporter Boya
IRS1 Gly972Arg (rs1801278)	GTAGGCCTGCAAATGCTAGCAGCCC**[C/T]**GGGAG GTGCAGGGCCCAGTCTGCCC	C: VIC® T: FAM™
IRS2 Gly1057Asp (rs1805097)	GTCCGAGGACAACGATGAGGCGGCG**[T/C]**CCGGG CCCTGGGCGGTGGCAACGGC	T:VIC® C: FAM™

Taqpath ProAmp master mix, DNase –RNase free water ve SNP Assay kitleri vortekslendi ve kısa süre santrifüj edildi. Her örnek için üretici firma protokolü göz önüne alınarak PCR içeriği Tablo 6'da belirtildiği şekilde hazırlandı.

Tablo 6. SNP genotipleme reaksiyon içeriği

SNP genotipleme reaksiyon içeriği	Miktarı
DNase –RNase free water	3,75 µl
Taqman SNP Assay Kit 40X	0,25 µl
2xTaqpath ProAmp Master Mix	5 µl
Genomik DNA (3-10 ng)	1 µl
Total hacim	10 µl

Örnek sayısı kadar reaksiyon karışımı, genomik DNA eklenmeden hazırlandı ve karışım tüpü kısa süre vortekslendi. Karışımdan 96 Fast well platenin her bir kuyusuna 9 µl eklendi ve sonrasında her kuyuya ilgili örnekten 3-10 ng konsantrasyonunda 1 µl DNA eklendi. Kuyuların içinde hava kabarcığı olmamasına dikkat edildi. Plate, optical adhesive film ile kapatıldı ve gerçek zamanlı PCR cihazına yerleştirildi. SNP genotipleme protokolü, ilgili firmanın protokolüne bağlı olarak Tablo 7'de belirtilen ısı döngüsüne bağlı olarak gerçekleştirildi.

Tablo 7. Kantitatif-PZR sıcaklık değerleri **(**Sn; saniye, dk; dakika)

	Sıcaklık (°C)	**Zaman**	**Döngü/devir sayısı**
Polimeraz Aktivasyon	95	10 dk	1
Denatürasyon	95	15 sn	40
Birleşme /Uzama	60	1 dk	

3.8. İstatistiksel Analiz

Öncelikle Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testleri ile değişkenlerin gruplar bazında dağılımları test edilmiş ve normal dağılım varsayımı sağlanmıyorsa parametrik olmayan test yöntemleri seçilmiştir. Bu kapsamda, ölçümle elde edilen değişkenlerin bağımsız iki grupta karşılaştırılması amacıyla Mann-Whitney U testi, ikiden fazla bağımsız gruplar arasındaki farkın incelenmesinde ise Kruskal Wallis testi uygulanmış, farklılığın anlamlı bulunması durumunda çoklu karşılaştırma testleri ile farklılığı yaratan gruplar tespit edilmiştir. Kategorik değişkenler bakımından ilişki ya da gruplar arası farklılıkların incelemesinde ki-kare ve/veya Fisher'in exact testi uygulanmıştır. Kanser olmayı etkilediği düşünülen risk faktörlerinin incelenmesi amacıyla, tek değişkenli ve çok değişkenli lojistik regresyon analizleri yapılmış, analiz sonucunda modelde kalan değişkenlere ilişkin Oddslar, %95 güven aralıkları ve "p" değerleri ilgili tablolarda özetlenmiştir. Çalışmaya dair diğer demografik ve grup karşılaştırmaları sonuçları ise, nitel değişkenlerde oran, nicel değişkenlerde ise ortanca (minimum-maksimum) ile sunulmuştur. Çalışmanın istatistiksel analizlerinin gerçekleştirilmesinde SPSS 15.0 programı kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri

Çalışma kapsamına dahil edilen hasta ve kontrol örneklerine ait demografik özellikler Tablo 8 sunulmuştur. Bu kapsamda hasta grubunun yaş ortalaması 62.65±13.74, kontrol grubunun ise 58.78±13.81 olarak belirlenmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p=0,063). Çalışmaya dahil edilen 100 hastanın 53 (%52)' ü erkek, 47 (%48)' si kadın; 100 kontrol bireyin ise 49 (%48)' u erkek 51 (%52)' i kadındır. Cinsiyet dağılımında hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p=0,572).

Tablo 8. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri

Değişkenler		**Hasta**		**Kontrol**		**p**
		Ortalama ± Standart Sapma	**Ortanca (Dağılım Aralığı)**	**Ortalama± Standart Sapma**	**Ortanca (Dağılım Aralığı)**	
Yaş		62.65±13.74	62.0 (61.0)	58.78±13.81	60.0 (61.0)	0.063
		n, (%)		**n, (%)**		
Cinsiyet						
Erkek		53 (52.0)		49 (48.0)		0.572
Kadın		47 (48.0)		51 (52.0)		
Yaş	**<60**	36 (40.9)		52 (59.1)		0.439
	>60	42 (46.7)		48 (53.3)		

4.2. *IRS1* rs1801278 Polimorfizminin Genotip ve Alelik Frekansları

IRS1 rs1801278 polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarında ayırım yapılmaksızın, cinsiyete bağlı dağılımına bakıldığında erkeklerin 70 (%68.6)' inin Gly/Gly genotipine, 15 (%14.7)' inin Gly/Arg genotipine ve 17 (%16.7)' sinin Arg/Arg genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Kadınlarda genotiplerin dağılımının ise Gly/Gly için 66 (%67.3), Gly/Arg için 20 (%20.4) ve Arg/Arg için 12 (%12.2) olduğu

görülmüştür. *IRS1* rs1801278 polimorfizmi ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 9).

IRS1 rs1801278 polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarında ayırım yapılmaksızın, yaşa bağlı dağılımında 60 yaş altındaki bireylerin 63 (%71.6)' ünde Gly/Gly genotipi, 20 (%22.7)' sinde Gly/Arg genotipi ve 5 (%5.7)' inde Arg/Arg genotipi saptandı. 60 yaş üzerindeki bireylerde ise Gly/Gly genotipi 58 (%64.4), Gly/Arg genotipi 12 (%13.3) ve Arg/Arg genotipi 20 (%22.2) olarak saptandı (Tablo 9).

Tablo 9. *IRS1* polimorfizminin demografik dağılımı

IRS1	**Gly/Gly**	**Gly/Arg**	**Arg/Arg**	**p**
Erkek	70 (%68.6)	15 (%14.7)	17 (%16.7)	0.446
Kadın	66 (%67.3)	20 (%20.4)	12 (%12.2)	
Yaş<60	63 (%71.6)	20 (%22.7)	5 (%5.7)	**0.004**
Yaş>60	58 (%64.4)	12 (%13.3)	20 (%22.2)	

IRS1 rs1801278 polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarındaki allelik dağılımı incelendiğinde kontrol grubundaki tüm bireylerin en az bir Gly alleli içerdiği (%100) görülürken; hasta grubunun 71(%71)' inin Gly alleli içerdiği, 29 (%29)' unun ise Gly alleli içermediği görülmektedir. İki grup arasında allelik dağılım açısından anlamlı bir farklılık görülmüş olup, Arg allelinin mide kanseri gelişimine yatkınlık yarattığı görülmektedir (Tablo 10).

Tablo 10. *IRS1* polimorfizminin alelik dağılımı

	Hasta	**Kontrol**	**p[a]**	**OR (%95 GA)**	**p[b]**
***IRS1* Gly972Arg**					
"Gly" Aleli içeren	71 (%71)	100 (%100)	**<0.001**	1	…
"Gly"Aleli içermeyen	29 (%29)	0 (%0)		… (0.0 - …)	

[a]Ki kare testi ile karşılaştırılmıştır ; [b]Yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış lojistik regresyon analizi ile karşılaştırılmıştır.

IRS1 genine ait rs1801278 polimorfizmi için, kanser ve kontrol grupları ayrı ayrı değerlendirildiğinde kontrol bireylerin 91 (%91)' inin Gly/Gly ve 9 (%9)' unun Gly/Arg

genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda Arg/Arg genotipine sahip birey gözlemlenmemiştir. Hasta grubunda ise genotip frekansları sırasıyla Gly/Gly için 45 (%45), Gly/Arg için 26 (%26) ve Arg/Arg için 29 (%29) olarak belirlenmiştir. *IRS1* genine ait rs1801278 polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.001) (Tablo 11).

IRS1 rs1801278 genotipleri ile mide kanseri gelişimine yatkınlık arasındaki ilişkinin belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen lojistik regresyon analizi sonucu ise Gly/Gly genotipine göre Gly/Arg genotipinin 7,891 kat (%95 G.A: 3.251-19.154 p<0.001), Arg/Arg genotipinin ise 22.716 (%95 G.A: 6.311-81.761 p<0.001) kat daha fazla mide kanseri gelişimine yatkınlık yarattığını göstermektedir. rs1801278 polimorfizmi için elde edilen gerçekleştirilen Hardy Weinberg equilibrium ise X^2=51.94 ve p<0.001 olarak bulunmuştur (Tablo 11).

Tablo 11. *IRS1* polimorfizminin genotip frekansı

	Kontrol	**Hasta**	**p[a]**	**OR (%95 G.A.)**	**p[b]**
***IRS1* Gly972Arg**					
Gly/Gly	91 (%91)	45 (%45)		1	
Gly/Arg	9 (%9)	26 (%26)	**<0.001**	7.891 (3.251-19.154)	**<0.001**
Arg/Arg	0 (%0)	29 (%29)		22.716 (6.311-81.761)	**<0.001**

[a]Ki kare testi ile karşılaştırılmıştır ; [b]Yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış lojistik regresyon analizi ile karşılaştırılmıştır.

4.3. *IRS2* rs1805097 Polimorfizminin Genotip ve Alelik Frekansları

Cinsiyete bağlı *IRS2* rs1805097 polimorfizmi genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarında ayırım yapılmaksızın dağılımları incelendiğinde erkeklerin 62 (%60.8)' sinde Gly/Gly genotipine, 30 (%29.4)' unun Gly/Asp genotipine ve 10 (%9.8)' unun Asp/Asp genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Kadınların ise 55 (%56.1)' inde Gly/Gly, 36 (%36.7)' sında Gly/Asp ve 7 (%7.1)' sinde Asp/Asp genotipi saptanmıştır. Genotiplerin dağılımında kadın ve erkekler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p=0.493) (Tablo 12).

IRS2 rs1805097 polimorfizminin yaşa bağlı dağılımı 60 yaş altı grupta Gly/Gly genotipi 44 (%50.0), Gly/Asp genotipi 34 (%38.6) ve Asp/Asp genotipi 10 (%11.4); 60 yaş üzeri grupta ise Gly/Gly genotipi 56 (%62.2), Gly/Asp genotipi 27 (%30.0) ve Asp/Asp genotipi 7 (%7.8) olarak belirlenmiştir. Yaşa bağlı genotip dağılımları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p=0.253) (Tablo 12).

Tablo 12. *IRS2* polimorfizminin demografik dağılımı

IRS2	**Gly/Gly**	**Gly/Asp**	**Asp/Asp**	**p**
Erkek	62 (%60.8)	30 (%29.4)	10 (%9.8)	0.493
Kadın	55 (%56.1)	36 (%36.7)	7 (%7.1)	
Yaş<60	44 (%50.0)	34 (%38.6)	10 (%11.4)	0.253
Yaş>60	56 (%62.2)	27 (%30.0)	7 (%7.8)	

IRS2 rs1805097 polimorfizminin hasta ve kontrol gruplarındaki allelik dağılımı incelendiğinde kontrol grubundaki bireylerin 93(%93)' ünün Gly alleli, 7(%7)' sinin ise Gly alleli içermeyip Asp alleli içerdiği belirlenmiştir. Hasta grubunda ise bu oran Gly içerenler için 90 (%90) içermeyenler için 10 (%10)' dur. İki grup arasında allelik dağılım açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p=0.447) (Tablo 13).

Tablo 13. *IRS2* polimorfizminin alelik dağılımı

	Hasta	**Kontrol**	**p[a]**	**OR (%95 GA)**	**p[b]**
***IRS2* Gly1057Asp**					
"Gly" Aleli içeren	90 (%90)	93 (%93)	0.447	1	.449
"Gly" Aleli içermeyen	10 (%10)	7 (%7)		1.476 (0.539-4.047)	

[a]Ki kare testi ile karşılaştırılmıştır ; [b]Yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış lojistik regresyon analizi ile karşılaştırılmıştır.

Hasta ve kontrol grupları *IRS2* rs1805097 polimorfizmi açısından ayrı ayrı değerlendirildiğinde kontrol grubunun 60 (%60)' ının Gly/Gly genotipine, 33 (%33)' ünün Gly/Asp genotipine ve 7 (%7)' sinin Asp/Asp genotipine sahip olduğu belirlenirken, hasta grubunda Gly/Gly genotipi 57 (%57), Gly/Asp genotipi 33(%33) ve Asp/Asp genotipi 10 (%10) olarak saptanmıştır. *IRS1* genine ait rs1805097

polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p=0.738) (Tablo 14).

IRS2 genine ait rs1805097 polimorfizminin mide kanseri gelişimine yatkınlıktaki rolünü belirlemek amacıyla gerçekleştirilen lojistik regresyon analizi sonucunda Gly/Gly genotipine göre Gly/Asp genotipine sahip bireylerin 1.408 kat (%95 G.A: 0.725-2.727 p=0.313); Asp/Asp genotipine sahip bireylerin 2.311 kat (%95 G.A: 0.800-6.678 p=0.122) daha fazla mide kanseri gelişimine yatkın olduğu belirlenmiş olsa da bu değerler istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (Tablo 14). rs1805097 polimorfizmi için elde edilen gerçekleştirilen Hardy Weinberg equilibrium ise X^2=2.88 ve p=00896 olarak bulunmuştur. Dolayısıyla Hardy-Weinberg equillibrium için uyumlu olduğu söylenebilir.

Tablo 14. *IRS2* polimorfizminin genotip frekansı

	Kontrol	**Hasta**	**p[a]**	**OR (%95 G.A.)**	**p[b]**
IRS2					
Gly1057Asp					
Gly/Gly	60 (%60)	57 (%57)		1	
Gly/Asp	33 (%33)	33 (%33)	0.738	1.406 (0.725-2.727)	0.313
Asp/Asp	7 (%7)	10 (%10)		2.311 (0.800-6.678)	0.122

[a]Ki kare testi ile karşılaştırılmıştır ; [b]Yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış lojistik regresyon analizi ile karşılaştırılmıştır.

4.4. *IRS1* rs1801278 ve *IRS2* rs1805097 Polimorfizmlerinin Birleşik Genotip Frekansları

IRS1 rs1801278 ve *IRS2* rs1805097 polimorfizmlerinin birleşik olarak mide kanseri gelişimine yatkınlıktaki rolünü belirlemek amacıyla lojistik regresyon analizi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre Gly/Gly+Gly/Gly genotipine oranla Gly/Arg+Gly/Asp genotipinin 8.704 kat (%95 G.A: 2.303-32.890 p=0.001) ve Gly/Arg+Asp/Asp genotipinin 11.974 kat (%95 G.A: 1.327-107.567 p=0.027) daha fazla mide kanseri gelişimine yatkınlık yarattığı belirlenmiş olup bu değerler istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 15). Arg/Arg+Gly/Asp ve Arg/Arg+Asp/Asp genotiplerinin ise Gly/Gly+Gly/Gly genotipine oranla sırasıyla 5.157 kat (%95 G.A: 0.510-52.114

p=0.165) ve 4.448 kat (%95 G.A: 0.440-44.909 p=0.206) daha fazla mide kanseri gelişimine yatkınlık yarattığı belirlenmiş olsa da bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 15).

Tablo 15. IRS1 ve IRS2 polimorfizmlerinin beraber genotip frekansı

	Kontrol	**Hasta**	**p[a]**	**OR (%95 G.A.)**	**p[b]**
IRS1 ve IRS2					
Gly/Gly+Gly/Gly	29	55		1	
Gly/Arg+Gly/Asp	15	30		8.704 (2.303-32.890)	**0.001**
Gly/Arg+Asp/Asp	5	1		11.947 (1.327-107.567)	**0.027**
Arg/Arg+Gly/Asp	4	0		5.157 (0.510-52.114)	0.165
Arg/Arg+Asp/Asp	3	0		4.448 (0.440-44.909)	0.206

[a]Ki kare testi ile karşılaştırılmıştır ; [b]Yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış lojistik regresyon analizi ile karşılaştırılmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsülin, karaciğer, kas ve yağ gibi hedef dokularda glukoz homeostazını kontrol eden bir hormondur (Yükseloğlu ve ark., 2014). İnsülin, hedef hücrelerde tirozin kinaz ailesinden olan insülin reseptörüne bağlanarak bir dizi hücresel sinyal yolağının aktivasyonunu gerçekleştirir. İnsülinin insülin reseptörüne bağlanması sonucunda, insülin reseptörü otofosforilasyonla kendi kendini aktive eder. IRS proteinleri, insülin sinyal yolağında insülin reseptöründen gelen sinyalin hücre içine aktarımında görev alan temel adaptör moleküllerdir. IRS proteinleri aktive olan insülin reseptörünün β alt ünitesine bağlanarak reseptör tarafından fosforile olur ve hücre içi sinyal kaskadının başlamasını sağlar (Mazzoccoli ve ark., 2012).

IRS proteinlerinden IRS1 ve IRS2' nin hemen hemen tüm dokularda ekspresyon gösterdiği saptanmıştır. IRS1 hücre büyümesini ve periferal insülin etkisini kontrol ettiği, IRS2 vücut ağırlığının kontrolünü ve glukoz homeostazisini düzenlediği tespit edilmiştir (Slattery ve ark., 2004).

IRS proteinlerinin IR ve insülin benzeri büyüme faktörü reseptörü (IGFR) dışında vasküler endoteliyal büyüme faktör reseptörü (VEGFR), büyüme hormon reseptörü (GH), leptin, prolaktin, integrin gibi birçok reseptörle etkileşime geçmesi ve farklı kanser tiplerinde ekpresyon artışlarının gözlemlenmesi bu proteinlerin kanser gelişiminde önemli rol oynadığını göstermektedir (Görgişen ve ark., 2017).

Ekspresyon ve hücre sinyali çalışmalarına ek olarak, *IRS1* ve *IRS2* geninde bulunan polimorfizleri kanser ile ilişkilendiren çalışmalar da hız kazanmaktadır (Lin ve ark., 2014). İki gene ait en yaygın görülen polimorfizmlerin başında *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp değişimleri gelmektedir. İki gen evrimsel açıdan korunduğu için *IRS1* Gly972Arg polimorfizmi lokasyon olarak *IRS2* Gly1057Asp polimorfizmine denk gelmektedir (Lin ve ark., 2014). Dolayısıyla aynı hasta grubunda iki polimorfizme ait profilin ortaya konması oldukça önem taşımaktadır.

IRS1 Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp polimorfizmlerine yönelik gerçekleştirilen çalışmaların çoğu proteinlerin metabolik aktivitelerinden dolayı metabolik hastalıklar ile olan ilişkilerini ortaya koymaya yöneliktir. Son yıllarda yapılan

çalışmalar popülasyon düzeyinde her iki polimorfizmin de tip 2 diyabet gelişimi ile ilişkili olduğu göstermiştir (Huri ve ark., 2014; Vergotine, 2014). Bu durum, moleküler düzeyde bu polimorfizmlerin proteinlerin üç boyutlu yapısını değiştirerek PI3K ile olan bağlantısını zayıflattığı, buna bağlı olarak AKT aktivitesinde azalmanın meydana geldiği şeklinde açıklanmaktadır. Tip 2 diyabete ek olarak, *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp polimorfizmleri PKOS ile de ilişkilendirilmektedir. Yunan popoulasyonunda *IRS1* Gly972Arg polimorfizminin, PKOS'a yatkınlık yarattığı saptanırken, *IRS2* Gly1057Asp polimorfizmi ile anlamlı bir ilişki görülmemiştir (Christopoulos ve ark., 2010). Çin popülasyonunda ise IRS2 Gly1057Asp polimorfizminin de PKOS gelişimine yatkınlıkta önem taşıdığı belirlenmiştir (Lin ve ark., 2014).

İki polimorfizme yönelik gerçekleştirilen kanser çalışmalarında da tıpkı metabolik hastalıklarda olduğu gibi çelişkili sonuçlar elde edilmektedir. Bu durum kanser araştırmalarında, etnik köken, kanser tipi, örneklem büyüklüğü ve yaşam tarzı gibi birçok değişkenin varlığından kaynaklanmaktadır. Bu durum her iki polimorfizmde popülasyon spesifik çalışmalarının önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmamız kapsamında *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp polimorfizmlerinin gastrik kanseri gelişimi ile arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmayı hedefledik. Literatürde, bugüne kadar gastrik kanserinde ilgili polimorfizmlerin incelendiği bir çalışma saptamadık. Gerçekleştirdiğimiz analizler sonucunda *IRS1* Gly972Arg varyatında, heterozigot genotipe sahip olan bireylerin homozigot yabanıl tipe göre 7.891 kat ve Arg/Arg genotipine sahip olan bireylerin ise 22.716 kat daha fazla mide kanseri gelişmine yatkın olduğunu saptadık. Aynı varyantın allelik dağılımında ise genotipinde Arg alleline sahip olan bireyin anlamlı bir şekilde mide kanseri gelişimine yatkınlık yarattığını belirledik. 2014 yılında 3708 kolorektal kanser vakası üzerinde Gly972Arg varyantına yönelik gerçekleştirilen çalışmada, karışık popülasyonlarda bu varyantın kolorektal kanser gelişiminde etkin olduğu saptanmıştır (Li ve ark., 2014). Meme ve over tümörü hastaları üzerinde 2013 yılında gerçekleştirilen meta analiz çalışması da benzer şekilde Gly972Arg varyantının bu kanserlerin gelişimine yatkınlık yarattığını göstermiştir (Zhang ve ark., 2013) Prostat kanseri üzerinde gerçekleştirilen çalışmada ise anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Fall ve

ark., 2008). Aynı hasta grubunda yapılan farklı bir çalışmada ise *IRS1* Gly972Arg varyantı ile prostat gelişimi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (Neuhause ve ark., 2005). Çalışmalardan elde edilen sonuçlar çelişkili olmakla beraber bunun temel nedeni hasta ve kontrol sayıları ve popülasyonlar arasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır.

IRS2 Gly1057Asp varyatının kanser ile ilişkisine yönelik gerçekleştirilen çalışmalar *IRS1*'e göre daha sınırlı sayıdadır. 2014 yılında Türk popülasyonunda kolorektal kanser vakaları üzerine gerçekleştirilen çalışmada *IRS2* Gly1057Asp varyantı ile kolorektal kanser gelişimi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Yükseloğlu, 2014). Ancak, Türk popülasyonunda endometriyum kanseri vakaları üzerinde gerçekleştirilen çalışmada ise *IRS2* Gly1057Asp varyantında Asp/Asp genotipine sahip bireylerin 4.87 kat daha fazla endometriyum kanseri gelişimine yatkın oldukları belirtilmiştir (Çayan ve ark., 2010). Aynı grubun over kanseri üzerine gerçekleştirdiği çalışmada ise Türk popülasyonunda *IRS2* Gly1057Asp varyantı ile over kanseri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Çayan ve ark., 2011). *IRS2*'nin kolorektal kanser gelişimindeki rolünü aydınlatmaya yönelik 2017 yılında gerçekleştirilen meta analiz çalışmasında *IRS2* Gly1057Asp varyantının kolorektal kanser gelişimi riskini azalttığı yönünde veriler elde edilmiştir (Yin ve ark., 2017). 2014 yılında Hu ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise *IRS2* Gly1057Asp varyantının meme ve kolorektal kanser gelişimi ile anlamlı bir etkileşiminin olmadığı belirtilmiştir (Hu ve ark., 2014). Bu çalışmada *IRS2* Gly1057Asp varyantında Asp/Asp genotipine sahip olan bireylerin Gly/Gly genotipine sahip olan bireylere göre 2.311 kat daha fazla mide kanseri gelişimine yatkın olduğunu saptamış olsak da bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bunun temel nedeni olarak hasta ve kontrol sayısının sınırlı olduğunu düşünüyoruz. Daha geniş popülasyonlarda yapılacak bir çalışmanın bu varyantın mide kanseri gelişimindekini etkisini net ortaya konması açısından önem taşıyacaktır.

IRS1 Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp varyantlarının beraber hastalık gelişimindeki etkilerini inceleyen çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. PKOS gelişimi üzerine gerçekleştirilen çalışmada Çin popülasyonununda obez olmayan kadınlarda *IRS2* varyantının *IRS1* ile etkileşimi sonucunda PKOS gelişimine yatkınlık yarattığını bildirmiştir (Lin ve ark., 2015). 2005 yılında yapılan başka bir çalışmada ise

premenopozal kadınlarda bu varyantların etkin olabileceği ancak PKOS gelişimiyle ilişkili olmadığı saptanmıştır (Villuendas ve ark., 2005). Pakistan Punjabi popülasyonunda Tip 2 diyabet gelişiminde ise bu varyantların düşük etkili olabileceği ancak popülasyon sayısının arttırılması gerektiği önerilmiştir (Ijaz ve ark., 2019). İki varyantın beraber çalışıldığı hastalıklar metabolik hastalıklar olup, kanser araştırmalarında herhangi bir literatür verisine rastlamadık. Bu çalışmada homozigot dominant genotiplere göre diğer tüm genotiplerin mide kanseri gelişimine sırasıyla Gly/Arg+Gly/Asp 8.704; Gly/Arg+Asp/Asp 11.947; Arg/Arg+Gly/Asp 5.157; Arg/Arg+Asp/Asp 4.448 kat daha fazla yatkınlık yarattığını hesapladık. Ancak Arg/Arg+Gly/Asp, Arg/Arg+Asp/Asp genotiplerinde istatistiksel anlamlılık bulamadık. Bunun temel nedeninin ise *IRS2* varyantıda olduğu gibi hasta popülasyonundaki sınırlamadan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile literatürde ve Türk populasyonunda ilk kez mide kanseri gelişiminde *IRS1* Gly972Arg ve *IRS2* Gly1057Asp varyantlarının tekli ve kombinasyonel etkileri ortaya konmuş oldu. *IRS1* Gly972Arg varyantının ve *IRS2* Gly1057Asp varyantı ile etkileşimlerinin mide kanseri gelişimine yatkınlıkta etkin rol oynadığı belirlendi. Ancak bu varyantların birer belirteç olarak kullanabilmesi için daha büyük popülasyonlarda çalışılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Al-Salam A, Irwin DM. Evolution of the vertebrate insulin receptor substrate (IRS) gene family. BMC Evol Biol. 2017;17(1):148.

Ayaz L, Karakaş Çelik S, Çayan F. The G1057D polymorphism of insulin receptor substrate-2 associated with gestational diabetes mellitus. Gynecological Endocrinology.2014; 30(2):165-8.

Berlth F, Bollschweiler E, Drebber U, Hoelscher AH, Moenig S. Pathohistological. classification systems in gastric cancer: Diagnostic relevance and prognostic value. World J Gastroenterol.2014;20(19):5679–84.

Bodhini D, Radha V, Deepa R, Ghosh S, Majumder PP, Rao MR ve ark. The G1057D polymorphism of IRS-2 gene and its relationship with obesity in conferring susceptibility to type 2 diabetes in Asian Indians. Int J Obes (Lond). 2007; 31(1):97-102.

Boucher J, Kleinridders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2014; 1;6(1);a009191.

Boura-Halfon S, Zick Y. Serine kinases of insulin receptor substrate proteins. Vitam Horm. 2009; 80:313-49.

Chan SH, Chen JH, Li YH, Tsai LM. Gly1057Asp polymorphism of insulin receptor substrate-2 is associated with coronary artery disease in the Taiwanese population. J Biomed Sci. 2012;19:100.

Chen J, Wu A, Sun H, Drakas R, Garofalo C, Cascio S ve ark. Functional significance of type 1 insulin-like growth factor-mediated nuclear translocation of the insulin receptor substrate-1 and beta-catenin. J Biol Chem. 2005;280(33):29912-20.

Chen M, Jiang B, He B, Tang M, Wang P, Chen L ve ark. Genetic variations in PRKAA1 predict the risk and progression of gastric Cancer. BMC Cancer. 2018; (18): 923.

Cheng XJ, Lin JC, Tu SP. Etiology and prevention of gastric cancer. Gastrointest Tumors. 2016 ;3(1):25-36.

Choi YJ, Kim N. Gastric cancer and family history. Korean J Intern Med 2016;(31):1042-53.

Christopoulos P, Mastorakos G, Gazouli M, Deligeoroglou E, Katsikis I, Diamanti-Kandarakis E, Panidis D, Creatsas G.Study of association of IRS-1 and IRS-2 genes polymorphisms with clinical and metabolic features in women with polycystic ovary syndrome. Is there an impact? Gynecol Endocrinol. 2010;26(9):698-703.

Çayan F, Tok E, Aras-Ateş N, Ayaz L, Akbay E, Gen R ve ark. Insulin receptor substrate 2 gene polymorphism: is it associated with endometrial cancer? Gynecol Endocrinol. 2010; 26(5):378-82.

Çayan F, Gen R, Ateş Aras N, Ayaz L, Akbay E, Dilek S. Association of insulin receptor substrate-2 gene polymorphism with ovarian cancer. Balkan Med J. 2011; 28:14-7

Dearth RK, Cui X, Kim HJ, Hadsell DL, Lee AV. Oncogenic Transformation by the Signaling Adaptor Proteins Insulin Receptor Substrate (IRS)-1 and IRS-2. Cell Cycle. 2007;6(6):705-13.

Demiray Gürbüz E, Yılmaz Ö. Helicobacter pylori'nin Yaşam Stratejisi. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2011; 41(2):49-56.

Demirci E. Mide Kanserlerinin Evrelendirilmesinde Mültidedektör BT'nin Etkilediği, Operasyon Sonuçları ile Karşılaştırma (Tıpta Uzmanlık Tezi). Ankara: Ankara Üniversitesi; 2010.

Deng N , Zhou H , Fan H , ve Yuan Y. Single nucleotide polymorphisms and cancer susceptibility. Oncotarget. 2017; 8(66): 110635–49.

Dong J, Thrift AP. Alcohol, smoking and risk of oesophago-gastric cancer. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2017;31(5):509-17.

Demiray Gürbüz E, Yılmaz Ö. *Helicobacter pylori*'nin Yaşam Stratejisi. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2011;41(2):49-56,

Esposito DL, Verginelli F, Toracchıo S, Mammarella S, Lellıs L, Vannı CA ve ark. Novel insulin receptor substrate 1 and 2 variants in breast and colorectal cancer. Oncology Reports.2013; (30): 1553-60.

Fall K , Stark JR , Mucci LA , Chan J , Stampfer MJ , Kurth T ve ark. No association between a polymorphic variant of the IRS-1 gene and prostate cancer risk. Prostate. 2008;68(13):1416-20.

Filion M. Quantitative Real-time PCR in Applied Microbiology. Department of Biology, Université de Moncton, Canada: Caister Academic Press; 2012.

Gelaleti RB, Damasceno DC, Salvadori DMF, Marcondes JPC, PHO Lima, Morceli G ve ark. IRS-1 gene polymorphism and DNA damage in pregnant women with diabetes or mild gestational hyperglycemia. Diabetol Metab Syndr. 2015; 7: 30.

Gibson SL, Ma Z, Shaw LM. Divergent roles for IRS-1 and IRS-2 in breast cancer metastasis. Cell Cycle. 2007;6(6):631-7.

Gültekin M. Ülkemizdeki Mide Kanseri Epidemiyolojisi. Mide Kanseri Çalıştayı, Ankara: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu; 2016.10.

Güner A. Recent trends of gastric cancer treatment in Turkey. Transl Gastroenterol Hepatol. 2017; 2:31.

Göral V. Mide Kanserinde Etyopatogenez. Gastroenteroloji. 2015; 48-56.

Görgişen G, Gülaçar IM, Özes ON . The role of insulin receptor substrate (IRS) proteins in oncogenic transformation. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2017;63(1):1-5.

Gryko M, Kiśluk J, Cepowicz D, Zińczuk J, Kamocki Z, Guzińska-Ustymowicz K ve ark. Expression of insulin-like growth factor receptor type 1 correlate with lymphatic metastases in human gastric cancer. Pol J Pathol. 2014;65(2):135-40.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011;144(5):646-74.

Hawkins SF, Misafir PC. Multiplex Analyses Using Real-Time Quantitative PCR. Methods Mol Biol. 2017;1546:125-33.

Hu B, El Hajj N, Sittler S, Lammert N, Barnes R, Meloni-Ehrig A.Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. J Gastrointest Oncol.2012;3(3):251-61.

Hu B, Hajj NE, Sittler S, Lammert N, Barnes R, Ehrig AM. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. J Gastrointest Oncol. 2012;3(3): 251–61.

Hu Y, Zhou M, Zhang K, Kong X, Hu X, Li K ve ark. Lack of Association between Insulin Receptor Substrate2 rs1805097 Polymorphism and the Risk of Colorectal and Breast Cancer: A Meta-Analysis. Published. 2014; 30.

Hu Z, Ajani JA, Wei Q. Molecular Epidemiology of Gastric Cancer: Current Status and Future Prospects. Gastrointest Cancer Res. 2007;1(1): 12–9.

Huri HZ, Makmor-Bakry M, Hashim R, Mustafa N, Wan Ngah WZ. Optimisation of glycaemic control during episodes of severe/acute hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes mellitus. Int J Clin Pharm. 2012;34(6):863-70.

Huri HZ, Makmor-Bakry M, Hashim R, Mustafa N, Wan Ngah WZ. Effect of Interaction between Polymorphisms in Insulin Receptor Substrate Genes in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Severe/Acute Hyperglycemia. Tropical Journal of Pharmaceutical Research June. 2014; 13 (6): 889-94.

Hoffman M, Picture of the Stomach Human Anatomy 2009 .https://www.webmd.com/digestive-disorders/picture-of-the-stomach#1

Ijaz A, Babar S, Sarwar S, Shahid SU, Shabana. The combined role of allelic variants of IRS-1 and IRS-2 genes in susceptibility to type2 diabetes in the Punjabi Pakistani subjects. Diabetol Metab Syndr. 2019; 6(11):64.

Jacobs AR, Roith DL, Taylor SI. Insulin Receptor Substrate-1 Pleckstrin Homology and Phosphotyrosine-binding Domains Are Both Involved in Plasma Membrane Targeting. J Biol Chem. 2001;276(44):40795-802.

Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F.Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention.Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2014;23(5):700-13.

Kısaçam MA, Temizer Ozan PS. Kanser Hücrelerinin Metabolik İhtiyaçları ve Bağımlılıkları. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi. 2017;31(1):067-07.

Kralik P, Ricchi M. A Basic Guide to Real Time PCR in Microbial Diagnostics: Definitions, Parameters, and Everything. Front Microbiol. 2017; (8): 108.

Lanzino M, Garofalo C, Morelli C, Le Pera M, Casaburi I, McPhaul MJ ve ark. Insulin receptor substrate 1 modulates the transcriptional activity and the stability of androgen receptor in breast cancer cells. Breast Cancer Res Treat. 2009;115(2):297-306.

Lassak A, Del Valle L, Peruzzi F, Wang JY, Enam S, Croul S ve ark. Insulin receptor substrate 1 translocation to the nucleus by the human JC virus T-antigen. J Biol Chem. 2002;277(19):17231-8.

Lavin DP, White MF, Brazil DP. IRS proteins and diabetic complications. Diabetologia. 2016; 59(11):2280-91.

Lazar D. Gastric Carcinoma - New Insights into Current Management, Londra: IntechOpen; 2013.

Li H, Adachi Y, Yamamoto H, Min Y, Ohashi H, Ii M ve ark. Insulin-like growth factor receptor blockade reduces tumorangiogenesis and enhances the effects of bevacizumab f or a human gastric cancer cell line, MKN45. Cancer. 2011;117(14):3135-47.

Li P, Wang L, Liu L, Jiang H, Ma C, Hao T. Association between IRS-1 Gly972Arg polymorphism and colorectal cancer risk. Tumour Biology : the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, 2014; 35(7):6581-85.

Lin MW, Wu MH. The role of vitamin D in polycystic ovary syndrome. Indian J Med Res. 2015; 142(3): 238–40.

Lin MW, Huang MF, Wu MH. Association of Gly972Arg variant of insulin receptor subtrate-1 and Gly1057Asp variant of insulin receptor subtrate-2 with polycystic ovary syndrome in the Chinese population. J Ovarian Res. 2014;(7):92.

López-Basave HN, Morales-Vásquez F, Ruiz-Molina JM, Ñamendys-Silva SA, Vela-Sarmiento I, Ruan JM, ve ark. Gastric cancer in young people under 30 years of age: worse prognosis, or delay in diagnosis? Cancer Manag Res. 2013; (5): 31–6.

Lu J, Yin Y, Du M, Ma G, Ge Y, Zhang Q. The association analysis of hOGG1 genetic variants and gastric cancer risk in a Chinese population. Oncotarget. 2016;7(40):66061-68.

Luo J, Wen Q, Li J, Xu L, Chu S, Wang W ve ark. Increased expression of IRS-1 is associated with lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma. Int J Clin Exp Pathol. 2014; 7(9): 6117–24.

Machado- Neto JA, Fenerich BA, Alves APNR, Fernandes JC, Scopim-Ribeiro R, Coelho-Silva JL ve ark. Insulin Substrate Receptor (IRS) proteins in normal and malignant hematopoiesis. Clinics (Sao Paulo). 2018; 73(1): e566s.

Mardilovich K, Pankratz SL, Shaw LM. Expression and function of the insulin receptor substrate proteins in cancer. Cell Commun Signal. 2009; (7): 14.

Mazzoccoli G , Dagostino MP, Fontana, GrandOne E , Favuzzi G , Tiscia G , Margaglione M, Matthaeis A de , Greco , Vendemiale G ,Influence of the Gly1057Asp variant ofthe insulin receptor substrate 2 (IRS2)on insulin resistance an d relationship with epicardial fat thickness in the elderly. Exp Gerontol. 2012 ;47(12):988-93.

McLean MH , El-Ömer EM. Genetics of gastric cancer. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2014 ;11(11):664-74.

Min Y, Adachi Y, Yamamoto H, Imsumran A, Arimura Y, Endo T ve ark. Insulin-like growth factor I receptor blockade enhances chemotherapy and radiation responses and inhibits tumour growth in human gastric cancer xenografts.2005;(54):591–600.

Morelli C, Garofalo C, Sisci D, Rincon S, Cascio S, Tu X, ve ark. Nuclear insulin receptor substrate 1 interacts with estrogen receptor alpha at ERE promoters. Oncogene. 2004; 23(45):7517-26.

National Cancer Instıtute. What is cancer ? [internet]. 2019. [Erişim tarihi 30 Eylül 2019]. Erişim adresi: https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-iscancer.

Neuhausen SL, Slattery ML, Garner CP, Ding YC, Hoffman M, Brothman AR. Prostate cancer risk and IRS1, IRS2, IGF1, and INS polymorphisms: strong association of IRS1 G972R variant and cancer risk. Prostate. 2005;64(2):168-74.

Overbergh L, Giulietti A, Valckx D, Decallonne R, Bouillon R, Mathieu C. The use of real-time reverse transcriptase PCR for the quantification of cytokine gene expression. J Biomol Tech. 2003;14(1):33-43.

Parsa N. Environmental factors inducing human cancers. Iran J Public Health. 2012;41(11):1-9.

Prisco M, Santini F, Baffa R, Liu M, Drakas R, Wu A, ve ark. Nuclear translocation of insulin receptor substrate-1 by the simian virus 40 T antigen and the activated type 1 insulin-like growth factor receptor. J Biol Chem.2002; 277(35):32078-85.

Ramos MFKP, Ribeiro Júnior U, Viscondi JKY2, Zilberstein B, Cecconello I, Eluf-Neto J. Risk factors associated with the development of gastric cancer - case-control study. Rev Assoc Med Bras. 2018;64(7):611-9.

Rahman MM, Sarker MAK, Hossain MM, Alam MS, Islam MM, Shirin L, Sultana R, Sultana GNN. Association of p53 Gene Mutation With Helicobacter pylori Infection in Gastric Cancer Patients and Its Correlation With Clinicopathological and Environmental Factors. World J Oncol. 2019;10(1): 46-54.

Rashidi B, Azizy L, Najmeddin F, Azizi E. Prevalence of the insulin receptor substrate-1(IRS-1) Gly972Arg and the insulin receptor substrate-2(IRS-2) Gly1057Asp polymorphisms in PCOS patients and non-diabetic healthy women. J Assist Reprod Genet. 2012;29(2):195-201.

Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention.Gastroenterology. 2019; 14 (1): 26–38.

Sekikawa A, Fukui H, Maruo T, Tsumura T, Okabe Y, Osaki Y. Diabetes mellitus increases the risk of early gastric cancer development. Eur J Cancer. 2014;50(12):2065-71.

Scott G, Houghton MD, Franklin R, Cocker MD. Real-time PCR: Overview and applications. 2006;139(1): 1-5.

Shahhoseini Z, Jeivad F, Ahangar N, Abediankenari S. Different Genotype of rs3130932 Single Nucleotide Polymorphism Between Gastric Cancer Patients and Normal Subjects. J Gastrointest Cancer. 2017;48(1): 38-41

Shaw LM. The insulin receptor substrate (IRS) proteins At the intersection of metabolism and cancer. Cell Cycle. 2011; 10(11): 1750–56.

Shen GQ, Abdullah KG, Wang QK. The TaqMan method for SNP genotyping. Methods Mol Biol. 2009;(578):293-306.

Sisci D, Morelli C, Garofalo C, Romeo F, Morabito L, Casaburi F, ve ark. Expression of nuclear insulin receptor substrate 1 (IRS-1) in breast cancer. J Clin Pathol. 2006;60:633-41.

Sitarz R, Skierucha M, Mielko J, Offerhaus GJA, Maciejewski R, Polkowski WP. Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment. Cancer Manag Res. 2018;(10):239-48.

Slattery ML, Samowitz W, Curtin K , Ma KN , Hoffman M , Caan B ve ark. Associations among IRS1, IRS2, IGF1, and IGFBP3 genetic polymorphisms and colorectal cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004;13(7):1206-14.

Song Q, Zhang Z, Liu Y, Han S, Zhang X. The tag SNP rs10746463 in decay-accelerating factor is associated with the susceptibility to gastric cancer. Mol Immunol. 2015;63(2):473-8.

Sun Y, Li M. Genetic polymorphism of miR-146a is associated with gastric cancer risk: a meta-analysis. Eur J Cancer Care (Engl).2017;26(2).

Sümer M, Mide Kanserinin Kemoterapötik Tedavisi ve Bu Alandaki Gelişmeler R [Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı Bitirme Ödevi]. Kayseri: Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi; 2011.

Tramacere I, Negri E, Pelucchi C, Bagnardi V, Rota M, Scotti L ve ark.A meta-analysis on alcohol drinking and gastric cancer risk.Ann Oncol.2012;23(1):28-36.

Tu X, Batta P, Innocent N, Prisco M, Casaburi I, Belletti B ve ark. Nuclear translocation of insulin receptor substrate-1 by oncogenes and Igf-I. Effect on ribosomal RNA synthesis. J Biol Chem. 2002; 277(46):44357-65.

Villuendas G, Botella-Carretero JI, Roldán B, Sancho J, Escobar-Morreale HF, San Millán JL. Polymorphisms in the insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene and the insulin receptor substrate-2 (IRS-2) gene influence glucose homeostasis and body mass index in women with polycystic ovary syndrome and non-hyperandrogenic controls. Hum Reprod. 2005;20(11):3184-91.

White MF. IRS proteins and the common path to diabetes. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002;283(3): 413–22.

Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. Nature. 1998;391(6670):900-4.

Wu A, Chen J, Baserga R: Nuclear insulin receptor substrate-1 activates promoters of cell cycle progression genes. Oncogene. 2008; 27(3):397-403.

Yalçın S. Gastric Cancer in Turkey A Bridge Between West and East. Department of Medical Oncology Hacettepe University Institute of Oncology Ankara, Turkey. 2009; 3:29–32.

Yao Y, Nellåker C, Karlsson H. Evaluation of minor groove binding probe and Taqman probe PCR assays: Influence of mismatches and template complexity on quantification. Mol Cell Probes.2006; 20(5):311-6.

Yin J, Zhang Z, Zheng H, Xu L. IRS-2 rs1805097 polymorphism is associated with the decreased risk of colorectal cancer. Oncotarget. 2017; 8(15): 25107–14.

Yuan LW, Yamashita H, Seto Y. Glucose metabolism in gastric cancer The cutting-edge. World J Gastroenterol.2016;22(6):2046-59.

Yükseloğlu EH, Çelik SK, Kucuk MU, Yalin E, Ozkal SS, Ates C ve ark. IRS-2 G1057D polymorphism in Turkish patients with colorectal cancer. Prz Gastroenterol. 2014;9(2):88-92.

You HL, Liu TT, Weng SW, Chen CH, Wei YC, Eng HL ve ark. Association of IRS2 overexpression with disease progression in intrahepatic cholangiocarcinoma. Oncol Lett. 2018;16(4):5505-11.

Zhang H , Wang Ma, H, Xu Y. Association between insulin receptor substrate 1 Gly972Arg polymorphism and cancer risk. Tumour Biol. 2013; 34(5):2929-36.

Zhang X, Zhang M, Guo Q, Hu X, Zhao Z, Ni L ve ark. MicroRNA-1297 inhibits proliferation and promotes apoptosis in gastric cancer cells by downregulating CDC6 expression. Anti-Cancer Drugs. 2019; 30(8):803–11.

Zhao XM, Chen J, Yang L, Luo X, Xu LL, Liu DX ve ark. Association between IRS-2 G1057D polymorphism and risk of gastric cancer. World J Gastrointest Oncol. 2012; 4(1): 9–15.

ÖZGEÇMİŞ

01.02.1993 tarihinde Van'da doğan Uğur Karataş, ilk öğrenimini 1999-2007 tarihleri arasında Van Ağzıkara İlköğretim Okulu ve Van Erçek Mehmetçik İlköğretim okullarında okuyarak mezun olmuştur. Lise öğrenimini 2007-2011 yılları arasında Van Vali Haydar Bey Lisesi'nde tamamlamıştır. Lisans öğrenimini ise 2011-2015 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde tamamlamıştır.

2017-2020 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimini tamamlamıştır.

EKLER

EK 1. Etik Beyan Raporu

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
KARAR FORMU

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:08**	**Tarih: 09/11/2018**
	Dr. Öğr. Üyesi Gökhan GÖRGİŞEN sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen "Mide Kanseri Hastalarında IRS1 Gly972Arg ve IRS2Gly 1057Asp Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" isimli bilimsel araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiştir. Araştırmacıların Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun Çalışma Esasları Hakkında Yönergesinde belirtilen hususları yerine getirdikleri belirlenmiş olup, çalışmaları ile ilgili tüm sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere, söz konusu çalışmanın gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığına, toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu/oy birliği ile karar verilmiştir.	
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
5ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu	
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	**Prof. Dr. Yasin TÜLÜCE**	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Yasin TÜLÜCE	Tıbbi Biyoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Sıddık KESKİN	İstatistik Uzmanı	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Serap GÜNEŞ BİLGİLİ	Dermatoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Muhammed BATUR	Göz Hastalıkları	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Dr. Öğr. Üyesi Emine TÜRKMENOĞLU	Deontoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV	Tıbbi Farmakoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Dr. Öğr. Üyesi Zehra KAYA	Tıbbi Biyoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Sermin ALGÜL	Fizyoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Özgür GENÇ ŞEN	Endodonti	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Nazlı AKTAŞ YILMAZ	Avukat	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hukuk Müşavirliği	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Lütfü POLAT	Eczacı	Van Polat ECZANESİ	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Özge Burak DEĞER	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van Sanayiciler ve İş Kadınları Derneği	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Adnan SELÇUK	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van İş Geliştirme Merkezi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

Adres : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlük Binası Merkez Kampüsü Van
Tel : 432- 2251701-05
Faks : 432-2251091
e-posta: etikkurull@gmail.com

EK 2. Tez Orjinallik Raporu

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

LİSANSÜSTÜ TEZ ORİJİNALLİK RAPORU

Tarih: 25/12/2019

Tez Başlığı / Konusu: ***IRS1*** **Gly972Arg ve** ***IRS2*** **Gly1057Asp POLİMORFİZMLERİNİN GASTRİK KANSER GELİŞİMİ İLE ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Yukarıda başlığı belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam **49** sayfalık kısmına ilişkin, 25/12/2019 tarihinde tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %5 (yüzde beş) dır.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
-Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Uğur Karataş
Öğrencinin Adı Soyadı
İmza

Öğrencinin Adı Soyadı		Uğur Karataş
Anabilim Dalı	:	Tıbbi Biyoloji
Öğrenci No		17930002007
Programı	:	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR
(Unvan, Ad Soyad, İmza)
Dr. Öğr. Üyesi Gökhan Görgişen

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR
(Unvan, Ad Soyad, İmza)