

# Mide Karsinomları ve Prekanseroz Mide Lezyonlarının DNA Analizi ve DNA Ploidi İle İlişkisi

## DNA ANALYSIS OF GASTRIC CARCINOMA AND PREMALIGN GASTRIC LESIONS AND CORRELATE WITH DNA PLOIDY

M.Hadi YAŞA\*, Ahmet BEKTAŞ\*\*, Hakan AKBULUT\*\*\*, Celalettin CAMCI\*\*\*\*, Necati ÖRMECİ\*\*\*\*\*

\* Doç.Dr., Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, AYDIN

\*\* Yrd.Doç.Dr., Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, SAMSUN

\*\*\* Doç.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji BD, ANKARA

\*\*\*\* Yrd.Doç.Dr., Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji BD, AYDIN

\*\*\*\*\* Prof.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, ANKARA

### Özet

Mide kanseri, özellikle geç tanı konulmuş vakalarda kötü prognoza sahiptir. Son yıllarda görülme sıklığında azalma görülmesine rağmen mide kanseri günümüzde hala kanser nedeni ile görülen ölümlerin en yaygın sebeplerinden birisidir.

Flow sitometri değişik malign ve premalign lezyonlarda nükleer DNA içeriğini kantitatif ve hızlı olarak ölçen bir yöntemdir. Bu çalışmada, 36 normal mide mukozalı, 16 mide kanseri, 13 kronik atrofik gastritis, 9 mide polipi, 13 intestinal metaplazi ve 12 gastrik displazili hastadan endoskopik olarak alınan taze mide biyopsisi örneklerinde flow sitometrik ölçümler ile DNA ploidi durumu, total S fazı, G<sub>2</sub>M fazı ve proliferatif indeks araştırılmıştır.

Mide kanseri tanısı alan olgularda %43.75 oranında anöploidi saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Kronik atrofik gastritlilerin %15.38'inde, gastrik poliplerin %11.11'inde, intestinal metaplazililerin %15.38'inde ve gastrik displazililerin ise %25'inde DNA anöploidi bulunurken, normal mide mukozasına sahip olguların hiçbirinde DNA anöploidi saptanmamıştır.

DNA anöploidi oranı ile olguların yaş ve cinsleri arasında bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Total S fazı ve proliferatif indeks, normal gastrik mukozalı hastalarda, diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). G<sub>2</sub>M fazı açısından ise gruplar arasında bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** DNA flow sitometri, DNA ploidi, Mide kanseri, Premalign mide lezyonları

T Klin Gastroenterohepatol 2000, 11:115-122

### Summary

Gastric cancer has a poor prognosis, this is partly due to the advanced stage in which the tumor is diagnosed. Therefore, although the frequency of gastric carcinoma is declining, the disease is still a common cause of cancer deaths.

Flow cytometry enables rapid and reproducible quantitation of nuclear DNA content from disaggregated tissues and assessments of its significance in various malignant and premalignant conditions.

In this study, flow cytometric measurements, DNA ploidy and total S phase, G<sub>2</sub>M phase, and proliferative index have been performed on biopsy specimens of fresh tissue of stomach, obtained by gastroscopy in patients with normal gastric mucosa (controls), gastric cancer, chronic atrophic gastritis, gastric polyps, intestinal metaplasia, gastric dysplasia (respectively; 36,16,13,9,13 and 12 patients).

DNA aneuploidy was found in 43.75% of the gastric carcinomas ( $p < 0.05$ ), in 15.38% of chronic atrophic gastritis, in 11.11% of gastric polyps, in 15.38% of intestinal metaplasia and in 25.00% of gastric dysplasia. But none of samples from the normal gastric mucosa showed aneuploidy.

There was no significant difference in the frequency of DNA aneuploidy in terms of age and sex ( $p > 0.05$ ).

Total S phase and proliferative index in less found in patients with normal gastric mucosa than other groups ( $p < 0.05$ ).

No difference between control group and other groups was found for the G<sub>2</sub>M phase ( $p > 0.05$ ).

**Key Words:** DNA flow cytometry, DNA ploidy, Gastric cancer, Premalignant gastric lesion

T Klin J Gastroenterohepatol 2000, 11:115-122

**Geliş Tarihi:** 28.12.1999

**Yazışma Adresi:** Dr.M.Hadi YAŞA  
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Gastroenteroloji BD, AYDIN

Mide karsinomu, dünyada yaygın olarak görülen malignitelerden birisidir. Etiyolojisi bilinmemekle birlikte, çevresel, genetik ve ailesel faktörler, diyet, Helicobacter pylori (Hp) ve çeşitli pre-

dispozan durumlar suçlanmaktadır. Tanı ve tedavideki gelişmelere rağmen mide karsinomu hala kanserden ölüm nedenleri arasında ilk sıralardaki yerini korumaktadır (1-7).

Mide kanserlerinde histopatolojik evre en önemli prognostik faktördür. Evrenin yanısıra tümörün histolojik derecesi de prognozda önemlidir. Fakat aynı evre ve farklılaşma derecesinde ve aynı tedavi uygulanan hastalarda da farklı sonuçlar alınabilmektedir. Bu nedenle mide karsinomlarında erken tanı ve premalign mide lezyonlarının önceden bilinmesi önem kazanmaktadır (1,4).

Flow sitometrinin klinik kullanım alanına girmesiyle birlikte DNA ploidi durumu ile total S faz ve G<sub>2</sub>M fazı fraksiyonlarının prognozla ilişkisi olabileceği gösterilmeye başlanmıştır (8-10). Ayrıca DNA anöploidi; midenin epitelial lezyonlarında anormal hücrelerin varlığını göstermede ve gastrik lezyonların progresyonunu takip etmede özellikle son yıllarda kullanılan belirleyici bir faktör olmuştur (8,11,12).

Bu çalışmada, mide karsinomu ve prekanseröz mide lezyonlarının taze dokularında flow sitometrik DNA analizi ile DNA ploidi, total S ve G<sub>2</sub>M fazı fraksiyonları gibi parametrelerin ölçümü yapılarak, çeşitli gastrik lezyonlardaki anöploidi oranlarının saptanması ve histopatolojik tanımlar ile bu parametreler arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### Materyel ve Metod

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalına başvuran ve endoskopik mide biyopsisi alınarak histopatolojik incelemesi yapılan 157 vaka çalışmaya alındı. Ancak bunlardan, yeterli hücre ayrımı yapılarak flow sitometride değerlendirilebilir histogram elde edilebilen 99 (%63.1) vaka değerlendirmeye alındı.

Hastalar histopatolojik tanıları dikkate alınarak 7 ayrı gruba ayrıldı: mide karsinomu, mide polipi, epitelial displazi (ED), intestinal metaplazi (İM), kronik atrofik gastritis (KAG), normal mide mukozası (NMM) gözlenenler ve histopatolojik incelemede midede patoloji tesbit edilmeyen duodenal ülserliler (DÜ).

Değerlendirmeye alınan vakaların bazı demografik özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Mide operasyonu geçirmiş olanlar ile herhangi bir sistemik veya malign hastalığı bulunanlar, ülseratif kolitis ya da Crohn hastalığı bulunanlar çalışmaya alınmadı.

Hastalara xylokain ile boğazın lokal anesteziinden sonra Olympus GIF Q20 ile özefagogastroduodenoskopi yapıldı. Histopatolojik inceleme için Olympus biyopsi forsepsi (Olympus Optics co. Tokyo, Japan) ile 4-6 adet, flow sitometrik inceleme için ise 8-12 adet endoskopik biyopsi alındı. Biyopsiler lezyon görülen vakalarda lezyonun üzerinden ve kenarından, lezyon bulunmayan vakalarda ve duodenal ülserlilerde ise antrumdan alındı.

Flow sitometri için taze dokudan alınan biyopsi örnekleri, çalışılmak üzere içi boş epindof tüpleri içine konularak DNA analizi yapılmak üzere hemen ilgili laboratuvara gönderildi.

Taze biyopsi örnekleri laboratuvarında doku vasatı (RPMI 1640) içinde bistüri ile milimetrik kesitlere ayrıldı. Daha sonra supernatan ayrılarak 50 mikronluk naylon filtreden süzüldü ve santrifüjle hücreler çöktürülerek boyama işlemine geçildi.

Flow sitometrik DNA analizinde Hedley ve arkadaşlarının tanımladıkları yöntem modifiye edilerek uygulandı (13).

### DNA Boyaması

1. Tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üstte kalan sıvı kısım aspire edildi.
2. DNA boyama işleminde CycleTEST PLUS, Becto Dickinson (BD) ticari kiti kullanıldı. Tüplerin dibindeki hücrelerin üzerine 250 µl tripsin buffer (A çözeltisi) eklenerek 10 dakika enkübe edildi.
3. A çözeltisini atmadan üzerine 200 µl tripsin inhibitör + ribonükleaz (B çözeltisi) eklenerek 10 dakika enkübe edildi.
4. B çözeltisini atmadan üzerine 200 µl propidium iyodür + spermin tetrahidroklorür (C çözeltisi) eklendi ve buz dolabında 10 dakika karanlıkta bekletildi.
5. Enkübyasyonda sonra karışım 37 µm filtreden süzüldü ve ardından flow sitometrik analiz yapıldı.

### Flow Sitometrik Analiz

Hücre DNA içeriği ile orantılı kırmızı nükleer floresans Becton Dickinson Fac Scan marka flow sitometride ölçüldü. Örnek analizinden önce floresans referans boncuklar (2 µm) ile cihaz kalibre edildi. Propidyum iyodür floresans 488 nm’de argon laser ile uyarıldı. Her örnekten en az 10-15 bin çekirdek sayıldı.

### DNA Histogramlarının Yorumlanması

Histogramların yorumlanmasında CV (coefficient of variation) değerleri dikkate alındı. CV’si 5’den küçük olan ve tek bir G<sub>0,1</sub> piki içeren histogramlar “diploid” olarak yorumlandı. CV’si 8’den büyük olan histogramlar ise değerlendirme dışı bırakıldı.

Anöploid histogramlarda, ikinci pikin toplam sayımın en az %10’unu içermesine, diploid pikten net olarak ayırd edilmesine ve anöploid G<sub>0,1</sub> pikine karşılık gelen G<sub>2M</sub> piki bulunmasına dikkat edildi.

Ploidi değerlendirmesinde DNA indeksi (Dİ) kullanıldı. DNA indeksi aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{DNA indeksi} = \frac{\text{Anöploid G}_{0,1} \text{ pikinin kanal numarası}}{\text{Diploid G}_{0,1} \text{ pikinin kanal numarası}}$$

Dİ=1.00 ± %10 olduğunda, histogram diploid olarak değerlendirildi. Anöploid histogramlarda birinci pik diploid pik olarak kabul edildi. Histogramda birden fazla anöploid pik bulunması durumunda multiploidi şeklinde yorumlandı. Anöploid piklerin diğer alt grupları aşağıdaki Dİ değerlerine göre tanımlandı:

Dİ=1.1-2.0 ise hiperdiploid

Dİ= 2.0 ise teraploid

Dİ>2.0 ise hipertetraploid

Tetraploid histogramlarda, Dİ’nin 2.0 olmasının yanısıra anöploid pikteki hücre oranının toplamın en az %20’si olmasına da dikkat edildi (14).

### Hücre Siklus İstatistikleri

Histogramların hücre siklusuna ilişkin istatistikleri (G<sub>0,1</sub> piki, S fazı, G<sub>2M</sub> pikine ait) BD tarafından üretilen “MODEIT” yazılım programı kullanılarak hesaplandı. CV’si 8’in üzerinde olan piklerde güvenilir olamayacağı için S-faz fraksiyonları hesaplanmadı.

### İstatistiksel Yöntem

Grupların kontrol grubu ile ya da kendi aralarındaki değerlendirmelerinde bağımsız t testi kullanıldı.

### Bulgular

Çalışmaya alınan 99 vakada flow sitometri ile; DNA ploidi durumu ile total S fazı, G<sub>2M</sub> fazı, proliferatif indeks (Total S faz + G<sub>2M</sub> fazı), diploid CV yüzdeleri tesbit edildi. Anöploidi tesbit edilenlerde ayrıca anöploid CV ve DNA indeksi de hesaplandı. Gruplarda anöploidi tesbit edilenlerin sayı ve oranları Tablo 2’de gösterilmiştir.

Mide ca’lıların tümü midenin korpus ya da antrumuna yerleşmişti ve bunların %43.8’inde DNA anöploidi (%12.5 tetraploidi) tesbit edildi. İkinci grupta, yani mide ca’lılarda tesbit edilen DNA anöploidi oranı diğer gruplardan belirgin olarak daha yüksekti. Bir ve yedinci gruba göre 2. grupta tesbit edilen DNA anöploidi oranı istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05).

Çalışmamızda DNA anöploidi tesbit edilen KAG’lı 2 hastanın ikisinde de şiddetli atrofi mevcuttu.

Araştırmamızda tesbit edilen mide poliplerinin tümü korpus veya antrumdaydı. Histopatolojik incelemede 1 polip adenomatöz polip, diğerlerinin ise hiperplastik polip olduğu saptandı. Poliplerden 7’sinin çapı 2 cm’den küçüktü. İki polipin ise çapı 2 cm’den büyüktü. Polip çapı 2 cm’den büyük olan 2 polipten birinde (%50) anöploidi tesbit edildi. Anöploidi tesbit edilen polipin histopatolojik özelliği hiperplastik polip karakterindeydi.

İM’li grupta anöploidi tesbit edilen 2 vakada da intestinal metaplaziye şiddetli atrofi eşlik etmekteydi.

Epitelial displazi grubunda anöploidi saptanan 3 vakada da şiddetli displazi mevcuttu. Hafif ve orta derecede displazi bulunan 6 vakanın hiçbirinde anöploidi tesbit edilmezken, şiddetli displazi bulunan 6 vakanın 3’ünde (%50) anöploidi saptandı.

Çalışmamızda elde edilen ortalama total S faz, G<sub>2M</sub> fazı, proliferatif indeks (total S faz + G<sub>2M</sub> fazı) ve diploid CV yüzdeleri Tablo 3’de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Çalışmaya alınan vakaların bazı demografik özellikleri

	Mide ca	Mide polipi	ED	İM	KAG	NMM	DÜ
Vaka sayısı	16	9	12	13	13	20	16
Yaş ortalaması (yıl)	66.1	58.2	56.8	55.0	47.1	44.8	42.8
Erkek/kadın oranı	10/6	5/4	5/7	6/7	7/6	9/11	6/10

**Tablo 2.** Çalışma gruplarında saptanan DNA anöploidisi sayısı ve oranları

Gruplar	Toplam sayı	Anöploidisi		Erkek/Kadın
		Sayısı	Oranı (%)	
1. Grup: NMM	20	0	-	-
2. Grup: Mide Ca	16	7	43.75	4/3
3. Grup: KAG	13	2	15.38	2/0
4. Grup: Mide polipi	9	1	11.11	1/0
5. Grup: İM	13	2	15.38	2/0
6. Grup: ED	12	3	25.00	1/2
7. Grup: DÜ	16	0	-	-

NMM: Normal mide mukozası, İM: İntestinal metaplazi, ED: Epitelial displazi, DÜ: Duodenal ülser

**Tablo 3.** Çalışma gruplarında ortalama total S faz, G<sub>2</sub>M fazı, proliferatif indeks ve Diploid CV değerleri (Pİ=Proliferatif İndeks)

Gruplar	Total S faz	G <sub>2</sub> M fazı	Pİ	Diploid CV
Grup 1	2.17±2.96	1.16±3.97	3.33±6.56	4.08±1.53
Grup 2	4.72±2.64	0.90±1.12	5.60±2.65	4.49±1.02
Grup 3	5.81±3.24	0.67±0.66	6.48±3.60	3.99±1.04
Grup 4	4.55±4.32	0.65±0.69	5.83±4.47	4.94±1.11
Grup 5	5.51±4.77	1.64±2.96	7.15±4.23	3.68±1.13
Grup 6	3.76±3.30	1.44±3.69	8.18±9.36	4.09±1.24
Grup 7	5.62±3.14	0.64±1.08	4.89±6.03	3.97±1.06

Gruplar arasında istatistiksel değerlendirme yapıldığında;

Ortalama total S faz açısından; Grup 1 ile grup 2, 3, 5 ve 7 arasında anlamlı farklılık tesbit edildi (p<0.05).

Proliferatif indeks açısından da; Grup 1 ile grup 3, 5, 6 arasında anlamlı farklılık vardı (p<0.05).

İstatistiksel değerlendirmede ortalama anöploid CV değerleri ve ortalama DNA indeksi açısından gruplar arasında anlamlı farklılık tesbit edilmedi (p>0.05).

## Tartışma

Kanserden ölüm nedenleri arasında önemli yer tutan ve kötü prognoza sahip olan mide karsinomları, gelişen endoskopik tekniklere rağmen günümüzde hala önemini korumaktadır. Bu nedenle yapılan çalışmalar mide karsinomlarının erken dönemde yani intramural evrede tanınabilmesi üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bunlara paralel olarak hastalığın patogenezi ve gelişim basamaklarının saptanması ile prekanseröz durumlar ve bu durumların bulunduğu hallerde gözlenen prekanseröz lezyonların erken tanınmasının önemi de artmaktadır (1,15).

Günümüzde bütün dikkatler, tümörlerin tedavi edilebilir dönemde tanınması yanında, karsinom gelişim basamaklarındaki öncü lezyonlarda, yani prekanseröz lezyonlar üzerinde toplanmaktadır. Karsinomların normal mukozadan çok, bu lezyonların zemininde gelişmesi olasılığı vardır. Son zamanlardaki çalışmalar özellikle mide epitelindeki prekanseröz değişikliklerin tesbit edilerek takipler sırasında muhtemel malign gelişimin erken tanınmasına yöneliktir. Böylece mide kanserinin daha gelişmeden ya da gelişse bile çok erken dönemde önlenmesi mümkün olacaktır (1,15).

DNA flow sitometri, tümörün proliferatif aktivitesi ve DNA içeriğinin kantitatif ölçümünün yapıldığı ve dolayısıyla tümörün daha sonraki klinik seyri hakkında dolaylı olarak bilgi veren bir yöntemdir. Mide karsinomlarının yanısıra ayrıca birçok tümörde de DNA ploidinın önemli bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (8,16,17,18).

Prekanseröz lezyonların hangi basamağından malignite periyoduna girdiği hala tam olarak bilinmemektedir. Çünkü histopatolojik değerlendirmeler subjektif kalmaktadır. Bu nedenle DNA flow sitometri gibi daha objektif bir metodun yardımına her zaman ihtiyaç duyulmuştur (19). Flow sitometri, hücresel karakterlerin hızlı bir şekilde gösterilmesine ve kantitatif ölçümlerin yapılmasına imkan sağlar. Ayrıca kanserdeki bölgesel heterojenitenin yapısını ortaya koyar (20-22). DNA flow sitometri, çeşitli hastalık durumlarındaki anormal mukozal proliferasyonu göstermek için, miktar belirleyen bir yöntem olarak da kullanılmaktadır (12,100). Bu yöntem hücre siklusu ile ilgili bilgileri de çok açık bir şekilde ortaya koyar. Böylece malignite riski yüksek lezyonların önceden tesbit edilmesini sağlar (24,25).

Literatürde mide karsinomlarında DNA anöploid oranının %31 ile %90 arasında değiştiği bildirilmektedir (8,16,17,26). Bizim çalışmamızda ise mide karsinomlarında anöploid oranı %43.75 bulundu. Teknik sorunlar, hasta seçimi ve birçok çalışmada hasta sayısının düşük olması gibi nedenlerle birbirlerinden farklı sonuçlar bildirilmektedir. Literatürde sadece Tosi ve Yonemura'nın çalışmalarında mide karsinomu vaka sayısı 100'den fazladır (27,28). Diğer çalışmalarda vaka sayıları azdır. Ayrıca mide karsinomlu vakalarda tümör heterojenitesi nedeniyle farklı yerlerden multipl bi-

yopsilerin alınması ile anöploid oranı artabilmektedir (8,16). DNA anöploid oranının intestinal tip ve miks tip mide karsinomlarında, diffüz tiplere göre daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir (17). Öte yandan anöploid oranı ile tümör lokalizasyonu arasında da ilişki bulunduğu gösterilmiştir. Nitekim Nanus ve arkadaşları 50 mide ca'lı hastada prospektif olarak yaptıkları bir çalışmada gastroözefagial bölge ve kardial tümörlerinin %96'sında, korpus ve antrum karsinomlarının ise %48'inde anöploid tesbit etmişlerdir (10). Baretton ve arkadaşları da kardial tümörlerinde anöploid oranını anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır (17). Kısaca tümörün lokalizasyonu, histolojik tipi, evresi ve differansiyasyon derecesi, kullanılan materyalin taze doku veya parafin blok olması, fiksasyonun şekli, DNA analizi için kullanılan tekniklerin farklılığı gibi faktörler çalışmalarda farklı sonuçlar alınmasının nedenleri olarak sayılabilir (10,16,17,28). Bizim vakalarımızın tümünün korpus ve antrum karsinomlarından oluşması, nisbeten düşük oranda anöploid tesbit etmemizin muhtemel nedenidir.

Tümör hücrelerindeki DNA içeriği, yani ploidi durumu, son yıllarda farklı ancak önemli bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (8,17,19).

DNA flow sitometrik çalışmalar mide karsinomlarında özellikle prognoz konusunda önemli bilgiler vermektedir. Mide karsinomlu hastalarda DNA anöploid tesbit edilmesi ilave bir olumsuz risk faktörü olarak görülmektedir ve belki de DNA anöploid gelecekte adjuvan kemoterapi endikasyonu için de bir belirleyici faktör olarak önerilebilir (17,29,30,31).

Mide karsinomlarının, prekanseröz mide lezyonları zemininde gelişebildiği birçok çalışmada gösterilmiştir (15,32,33). Ancak midenin epitelial lezyonlarında değerlendirme yapmak için DNA anöploidinin kullanıldığı çalışma sayısı çok azdır. Weiss ve arkadaşları çalışmalarında KAG'lilerde %8.5 oranında DNA anöploid tesbit etmişlerdir (12). Abdel-Wahap ve arkadaşları ise KAG'lilerde %18.2 oranında DNA anöploid saptamışlardır (19). Aynı çalışmalarda histolojik incelemede normal mide mukozası bulunanların hiçbirinde DNA anöploid tesbit edilmemiştir (12,19). Bizim çalışmamızda ise KAG tesbit edilen vakaların %15.38'inde DNA anöploid saptanırken, normal

mide mukozası bulunanların hiçbirinde anöploidi saptanmamıştır. İM ve epitelial displazi içermeyen hafif KAG'lilerde DNA anöploidi oranının, şiddetli KAG ve İM ya da epitelial displazi ile kombine olan KAG'lilerden daha düşük olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (19). Bizim çalışmamızda da DNA anöploidi saptanan KAG'li vakaların tümünde şiddetli atrofi bulunması, ancak hafif ve orta derecede atrofi bulunan KAG'li vakalarımızın hiçbirinde anöploidi bulunmaması bu durumu desteklemektedir.

Çalışmamızda İM tesbit edilen vakalarımızın da %15.38'inde DNA anöploidi tesbit edildi. Abdel-Wahab ve arkadaşlarının çalışmasında ise İM'lilerin %21.7'sinde DNA anöploidi saptandığı bildirilmiştir (19).

Epitelial displazi görülen mide lezyonlarında anöploidi oranının diğer prekanseröz mide lezyonlarından daha yüksek olduğu gösterilmiştir (11,19,26). Nitekim Abdal-Wahab ve arkadaşları yaptıkları çalışmada mide displazili vakalarda DNA anöploidi oranını sadece KAG bulunanlara göre yaklaşık 2 kat fazla saptamışlardır. Bu çalışmada sadece KAG bulunanlarda DNA anöploidi oranı %18.2 bulunurken, epitelial displazililerde ise %33.3 bulunmuştur (19). Bizim çalışmamızda da epitelial displazilerde DNA anöploidi oranı %25 ile prekanseröz lezyonlar içinde en yüksek oranda bulunmuştur. Çalışmamızda hafif ve orta derecede displazi bulunanlarda DNA anöploidi bulunmazken, şiddetli displazi bulunan 6 vakanın 3'ünde (%50) DNA anöploidi saptanmıştır. Bizim çalışmamızda DNA anöploidi saptanan epitelial displazili vakaların tümünde şiddetli displazi bulunması, displazinin derecesi ile DNA anöploidi arasında ilişki bulunduğunu bildiren diğer çalışmaları desteklemektedir (11,19).

Midenin adenomatöz ve hiperplastik polipleri benign lezyonlar olmalarına rağmen malign transformasyon gösterebilmektedirler (15). Bu nedenle prekanseröz lezyonlar arasında yer almaktadırlar. Ancak mide poliplerinde flow sitometrik çalışma çok azdır. Odegaard ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada korpus ve antrumda yerleşmiş bulunan hiperplastik polipli 9 vakanın 1'inde (%11.11) DNA anöploidi saptadıklarını bildirmişlerdir. Ancak DNA anöploidi saptanan polipin çapı belirtilmemiştir (16). Bizim çalışmamızda da 9 vakanın

bir tanesinde (%11.11) anöploidi saptandı. Anöploidi saptanan vakamızda polipin çapı 2 cm'den büyüktü ve polip hiperplastik karakterdeydi.

Flow sitometri ile yapılan çalışmalarda histolojik olarak normal mide mukozası örneği görülen vakaların hiçbirinde DNA anöploidi tesbit edilmemiştir (8,17,19). Bizim çalışmamızda da endoskopik ve histolojik olarak normal mide mukozası bulunan vakalar ile midesi normal olup endoskopide duodenumda ülser saptanan vakalarımızın hiçbirinde mide biyopsilerinde DNA anöploidi saptanmamıştır.

Çalışmamızda DNA anöploidi ve diploidi oranları yaş ve cinsiyet açısından da değerlendirildi. Ancak anöploidi ve diploidinin yaş ve cinsiyetle ilişkisi tesbit edilmedi ( $p>0.05$ ). Bu konuda yapılan çalışmalarda da seks ve yaş ile DNA ploidi arasında ilişki bulunmadığı bildirilmektedir (17).

DNA flow sitometri çeşitli hastalık durumlarında anormal mukozal proliferasyonun tesbit edilmesinde de yararlı bir yöntemdir. Proliferatif indeks ( $Pİ=$ proliferatif aktivite) göstergeleri olan total S faz ve  $G_2M$  fazlarındaki hücre sayıları kronik gastritisli hastalarda normal gastrik histoloji gösterenlere göre yüksek bulunmuştur (19).

DNA anöploidi bulunan tümörlerde total S faz fraksiyonu genellikle daha yüksek bulunmaktadır (8,19). Lee ve arkadaşları mide ca'lı hastalarda yüksek total S faz fraksiyonunun, kilo kaybı, kötü performans status ve histolojik olarak da az differansiyasyon ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (8).

Bizim çalışmamızda ortalama total S faz fraksiyonu mide ca, KAG ve İM grubunda normal mide mukozası tesbit edilenlere göre daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Lee ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da mide ca'lı vakalarda ortalama total S faz fraksiyonu, normal mide mukozası tesbit edilenlere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (8).

Çalışmamızda  $G_2M$  fazı açısından gruplar arasında farklılık tesbit edilmezken; proliferatif indeks, mide ca ve prekanseröz mide lezyonlarında normal mide mukozası bulunanlara göre belirgin olarak daha yüksek bulundu. DNA anöploidi vakalarda ise ortalama  $Pİ=8.63$  bulundu. Diploid vakalarla karşılaştırıldığında DNA anöploidi bulunan vakalarımızdaki ortalama  $Pİ$  değerindeki yükseklik daha da anlamlıydı ( $p<0.05$ ).

Odegaard ve arkadaşları yaptıkları çalışmada DNA anöploidi bulunan mide karsinomalı vakalarda proliferatif indeksi, diploid mide ca'lı vakalara göre yüksek bulmuşlardır. Bunun mukozadaki neoplastik ve/veya preneoplastik hücrelerin varlığıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (16). Ayrıca proliferatif indeksin yüksek olmasının özellikle safra kesesi tümörlerinde yüksek malign potansiyelin göstergesi olduğu gösterilmiştir. Odegaard ve arkadaşlarının çalışmalarında kanser ve gastrik polip grupları arasında Pİ açısından anlamlı farklılık tesbit edilmemiştir (16). Bizim çalışmamızda da mide ca'lı vakalar ile prekanseröz mide lezyonları arasında Pİ açısından anlamlı bir farklılık tesbit edilmemiştir ( $p>0.05$ ).

Ortalama CV değerleri ise çalışmamızda 7 grupta da benzer bulundu. Odegaard ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da mide ca, prekanseröz mide lezyonları ve normal mide mukozası bulunanlarda ortalama CV açısından bir farklılık tesbit edilmiştir (16).

Sonuç olarak;

DNA ploidi tayini mide karsinomunda hastalığın seyrini ve prognozunu önceden bildirmesinin yanısıra, midenin epitelial lezyonlarında, anormal hücre varlığını göstermede de faydalı bir yöntemdir ve gastrik lezyonlardaki kötü progresyonu gösterir. Şiddetli atrofik gastritisli, şiddetli atrofi ile kombine ya da tek başına intestinal metaplazili ve özellikle de şiddetli epitelial displazili hastaların sadece endoskopik takipleri çoğu zaman yetersizdir. Çünkü prekanseröz mide lezyonlarında DNA flow sitometri ile malign transformasyonun erken tayini DNA flow sitometri ile mümkündür. Bu nedenle prekanseröz mide lezyonlarında histolojik değerlendirmenin yanısıra malign transformasyonu daha objektif olarak saptanan DNA flow sitometrinin kullanılmasının bu lezyonlardaki malign transformasyonun erkenden teşhisine büyük katkı sağlayacağı inancındayız.

#### KAYNAKLAR

- Charles SF, Robert JM. Gastric carcinoma. N Eng J Med 1995; 6:32-41.
- Hirokazu N, Yasuyuki S, Tetsuichiro M. Recent advances in gastric cancer. Digestion 1997; 58(Suppl 1):62-4.
- Boland CR, Scheiman JM. Tumors of the stomach. In: Textbook of Gastro
- McCulloch P. Gastric cancer. Postgrad Med J 1996; 72:450-7.
- Correa P, Haenszel W, Cuello C. Gastric precancerous in a high risk population. Cancer Res 1990; 50:4737-70.
- Karaoğuz H, İçli F. Cancer problem in Türkiye. J Ank Med School 1993; 15:547-58.
- Örmeci N. Midenin malign tümörleri. Gastroenteroloji, Ed: Aktan H, 1.baskı. Ankara: Makro Yayıncılık, 1988: 103-10.
- Lee KH, Lee JS, Suh C. DNA flow cytometry of stomach cancer. Cancer 1993; 72:1819-26.
- Braylan RC. Flow cytometry. Arch Pathol Lab Med 1983; 107:1-6.
- Nanus DM, Kelsen DP, Niedzwiecki D. Flow cytometry as a predictive indicator in patients with operable gastric cancer. J Clin Oncol 1989; 7:1105-12.
- Macartny JC, Camplejohn RS. DNA flow cytometry of histological material from dysplastic lesions from human gastric mucosa. J Pathol 1986; 150:113-8.
- Weiss H, Gütz HJ, Scröter J. DNA distribution pattern in chronic gastritis. Scand J Gastroenterol 1989; 24:643-8.
- Headley DW, Friedlander MI, Taylor IW. Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. J Histochem Cytochem 1983; 31:1333-38.
- Sasaki K, Takahashi M. Flow cytometric DNA measurement of gastric cancers clinico-pathological implication of DNA ploidy. Path Res Prac 1989; 184:561-6.
- Donald A. Antonioli. Precursors of gastric carcinoma. Hum Pathol 1994; 25:994-1005.
- Odegaard S, Hostmark J, Skagen DW, et al. Flow cytometric DNA studies in human gastric cancer and polyps. Scand J Gastroenterol 1987; 22:1270-76.
- Baretton G, Carstensen O, Schadey M, et al. DNA ploidy and survival in gastric carcinomas: a flow-cytometric study. Virchows Archiv A Pathol Anat 1991; 418:301-9.
- Raber MN. Clinical applications of flow cytometry. Oncology 1988; 2:35-8.
- M.Abdel-Wahab AM, Abdallah MF. Correlation between endoscopy, histopathology and DNA flow cytometry in patients with gastric dyspepsia. Hepato-gastroenterology 1996; 43:1313-20.
- Greider MH, Steinberg V, Mc Guigan IF. Electron microscopic identification of gastrin cell of the human antral mucosa by means of immunocytochemistry. Gastroenterology 1972; 63:572-80.
- Douglas E, Merkel LG, Dressler LG, et al. Flow cytometry, cellular DNA content, and prognosis in human malignancy. Clin Oncol 1987; 5:1690-1703.
- Dressler LG, Seamer L, Owens MA. DNA flow cytometry and prognostic factors. Cancer 1988; 61:420-7.
- Shankey TV, Rabinovitch PS, Bagwell B. Guidlines for implementation of clinical DNA cytometry. Cytometry 1993; 14:472-7.

- 24.Thornthwait JT, Sugarbacker EV, Temple WJ. Preparation of tissue for DNA flow cytometry analysis. *Cytometry* 1980; 1:229-37.
- 25.Darzyniewicz Z. The cell cycle: Application of flow cytometry in studies of cell. In: Batter KD, ed. *Clinical flow cytometry*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993: 13-40.
- 26.Teodori L, Capurso L, Cordelle E, et al. Cytometrically determined relative DNA content as an indicator of neoplasia in gastric lesions. *Cytometry* 1984; 5(1):63-70.
- 27.Tosi P, Leoncini L, Cintorino M, et al. Flow cytometric analysis of DNA ploidy pattern from deparaffinized formalin-fixed gastric cancer tissue. *Int J Cancer* 1988; 42:868-71.
- 28.Yonemura Y, Ooyama S, Sugiyama K, et al. Retrospectively analysis of the prognostic significance of DNA ploidy patterns and S-phase fraction in gastric carcinoma. *Cancer Res* 1990; 50:509-14.
- 29.Wyatt J, Quirke P, Ward DC, et al. Comparison of histopathological and flow cytometric parameters in prediction of prognosis in gastric cancer. *J Pathol* 1989; 158:195-201.
- 30.Kimura H, Yonemura Y. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in advanced gastric cancer and its relationship with prognosis. *Cancer* 1991; 67:2588-93.
- 31.Korenaga D, Haraguchi M, Okamura T, et al. DNA ploidy and tumor invasion in human gastric cancer. *Arch Surg* 1989; 124:314-8.
- 32.Boddie A, McBride C, Balch C. Gastric cancer. *Am J Surg* 1989; 157:595-605.
- 33.Shankey TV, Rabinovitch PS, Bagwell B. Guidelines for implementation of clinical DNA cytometry. *Cytometry* 1993; 14:472-7.