

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**Gastrik Kanser Olgularında Serum miRNA Düzeyleri ve
Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Gösterilmesi**

UZMANLIK TEZİ

Dr. A. Çağrı BÜYÜKKASAP

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ

ANKARA

MART 2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**Gastrik Kanser Olgularında Serum miRNA Düzeyleri ve
Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Gösterilmesi**

UZMANLIK TEZİ

Dr. A. Çağrı BÜYÜKKASAP

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ

ANKARA

MART 2019

Prof. Dr. Erdoğan BÜYÜKKASAP ve

Prof. Dr. Bülent SALMAN'ın Anısına...



Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Ahmet Çağrı BÜYÜKKASAP
Baba Adı	Erdoğan
Doğum Yeri / Tarihi	Erzurum / 31.05.1989
Diploma Tarihi – Diploma No	20.07.2012 - 162405
Mezun Olduğu Fakülte	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı	Genel Cerrahi Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	5 Yıl
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Uzmanlık Tezinin Adı: “Gastrik Kanseri Olgularında Serum miRNA Düzeyleri ve Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Gösterilmesi”

Jüri Kararı: Araştırma Görevlisi Dr. Ahmet Çağrı BÜYÜKKASAP’ın “Gastrik Kanseri Olgularında Serum miRNA Düzeyleri ve Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Gösterilmesi” adlı çalışması uzmanlık tezi olarak oy birliği ile kabul edildi.

Jüri Üyeleri:

BAŞKAN
Prof. Dr. Bülent AYTAÇ

ÜYE
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
T.C. Gazi Üniversitesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Dip. No: 13652/23151 U. T. Fes. 10. 465/64

ÜYE
Prof. Dr. Salim DEMİRCİ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Salim DEMİRCİ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Dip. No: 13652/23151 U. T. Fes. 10. 465/64

TEŞEKKÜR

Cerrahi eğitimim boyunca benden ilgilerini esirgemeyen, bilgilerinden faydalandığım, becerilerini örnek aldığım, her koşulda etik kuralları önde tutan, mesleki incelikleri kazanmamda çok büyük emekleri olan başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Bülent AYTAÇ olmak üzere saygı değer hocalarıma;

Genel Cerrahi Anabilim Dalında eğitimim sürecinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, tez çalışmamın başlangıcından sonuna kadar her adımda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ ve Prof. Dr. Bülent SALMAN'a;

Tez sürecinde yardımlarını esirgemeyen, her zaman yol gösteren Prof. Dr. Özlem GÜLBAHAR, Öğr. Gör. Dr. Asiye UĞRAŞ DİKMEN, Doç. Dr. İlke Hacer ÖNEN, Arş. Gör. Hasan DAĞLI ve Uzm. Dr. Timur EKİZ'e;

Gece gündüz ayırt etmeksizin, mesleki alanda da sosyal alanda da abiliklerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım ve abilerim Doç. Dr. Hasan BOSTANCI ve Dr. Öğr. Üyesi Kürşat DİKMEN'e;

Asistanlık hayatım boyunca hepsinden birçok şey öğrendiğim, belki ailemden bile fazla gördüğüm, vakit geçirdiğim, asistanlık hayatıma güzel anılar katan, cerrahi gibi bir branşta zorluklara rağmen devam etmemi sağlayan, abilerim, ablalarım, kardeşlerim; Dr. Harun KARABACAK, Dr. Emre KARAAHMETLİ, Dr. Orhan ARSLAN, Dr. Arzu ALKAN, Dr. Mehmet Eren YÜKSEL, Dr. Alp YILDIZ, Dr. Hüseyin GÖBÜT, Dr. Kevser TAVUKCU, Dr. Selim KEÇEOĞLU, Dr. İlkin İSMAYİLOV, Dr. Aydın YAVUZ, Dr. Barış TURHAN, Dr. Mahir NASİROV, Dr. Niyazi GANBARLI, Dr. Engin KÜÇÜKDİLER, Dr. Yiğit KELEŞOĞLU, Dr. Mircelil SEYİDOV, Dr. İlker ERMİŞ, Dr. Gökay ÇETİNKAYA, Dr. Saygın ALTINER, Dr. Cihangir EMRAL, Dr. Hüseyin BAYHAN, Dr. Mesut YAVAŞ, Dr. Farshad NOORİ, Dr. Çağlar ŞAHİN, Dr. Can ŞAHİN, Dr. Emre GÜLÇEK, Dr. Umut EMREOL, Dr. Hakan Cem YILMAZ, Dr. Furkan AYDOĞDU, Dr. Onur METİNDÖĞAN, Dr. Serdar ŞEN, Dr. Yılmaz TÜRK, Dr. Ömer KUBAT ve Dr. Safa ÖZAYDIN'a;

Eğitim sürecim boyunca beraber çalıştığımız, cerrahinin bir ekip işi olduğunu öğrenmemi sağlayan tüm hemşire ve diğer personel arkadaşlarıma;

Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı çalışanları sn. Derya ŞAHİNDOKUYUCU, sn. Merve AKBALIK GENCAN, sn. Sümeyye AKSOY ve başta sn. Başak YAVUZ olmak üzere tüm NANOGEN ekibine;

Hayatım boyunca beni aldığım her kararda destekleyen, arkamda duran, desteklerini her zaman hissettiğim, beni ben yapan değerleri kazanmamı sağlayan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim annem Öğr. Gülten BÜYÜKKASAP, babam Prof. Dr. Erdoğan BÜYÜKKASAP ve kardeşim Bilge Nisa BÜYÜKKASAP'a;

Bu zor süreçte her daim yanımda olan eşim Öğr. Müge BÜYÜKKASAP'a teşekkür ederim.

Dr. A. Çağrı BÜYÜKKASAP

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın finansal desteği Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından sağlanmıştır. Gazi Üniversitesine bilime olan katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Dr. A. ağrı BÜYÜKKASAP

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLOLAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
GRAFİKLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	1
2.1. Gastrik Kanserler	1
2.1.1. Genel bilgiler ve epidemiyoloji.....	1
2.1.2. Risk faktörleri ve patogenezi.....	2
2.1.3. Klinik özellikler	4
2.1.4. Tanı.....	5
2.1.5. Gastrik kanser sınıflaması	6
2.1.6. Evreleme ve preoperatif değerlendirme.....	7
2.1.7. Neoadjuvan/Perioperatif kemoterapi.....	11
2.1.8. Erken gastrik kanser	12
2.1.9. İnvaziv gastrik kanserlerin cerrahi yönetimi	13
2.1.10. Prognoz	17
2.2. MikroRNA.....	19
2.2.1. Temel özellikler	19
2.2.2. miRNA biyosentezi ve moleküler mekanizması	19
2.2.3. miRNA tespit etme yöntemleri	20
2.2.4. Kanselerde miRNA'ların klinik uygulaması	21
2.2.5. Gastrik kanserlerde miRNA	22
2.2.6. Gastrik kanserlerde miRNA hedefleri.....	25
2.2.7. miRNA'nın gastrik kanserlerde kanser ilişkili fibroblastlardaki (CAF) fonksiyonu.....	26
2.2.8. Gastrik kanserlerde biyobelirteç olarak miRNA'lar	27
2.2.9. Gastrik kanserlerde dolaşımdaki miRNA düzeyleri	28

2.2.10.	Çalışmamızda değerlendirilen mikroRNA'lar	33
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1.	Etik Kurul Onayı ve Aydınlatılmış Onam.....	41
3.2.		41
3.3.	Dahil Edilme ve Dışlama Kriterleri.....	41
3.4.	Cerrahi Öncesi Değerlendirme ve Evreleme	42
3.5.	Gastrektomi ve D2 Lenf Nodu Diseksiyonu.....	42
3.6.	Alınan Örneklerden Serum İzolasyonu ve Örneklerin Saklanması.....	42
3.7.	RNA İzolasyon Protokolü (Qiagen miRNeasy Serum/Plazma Advanced Protokolü (Cat. No:217204).....	43
3.8.	cDNA Reaksiyonun Hazırlanması (Qiagen miScript II Kit, Cat. No:218161)	43
3.9.	Preamplifikasyon Reaksiyonunun Hazırlanması (Qiagen miScript Microfluidics PreAMP Kit, Cat No: 331455).....	44
3.10.	RT-PCR Mix ve Primer Hazırlanması: (Qiagen, miScript Microfluidic PCR kit, Cat. No: 331431)	45
3.11.	İstatiksel Analiz.....	45
4.	BULGULAR.....	47
4.1.	Olguların Demografik Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	47
4.2.	Olguların Patolojik Özelliklerinin ve Uzun Dönem Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	48
4.4.	Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açidan Değerlendirilmesi	49
4.5.	Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Erken Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açidan Değerlendirilmesi	51
4.6.	Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Kardiya Yerleşimli Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açidan Değerlendirilmesi.....	52
4.7.	Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Nonkardiyak Yerleşimli Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açidan Değerlendirilmesi.....	53
4.8.	Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Diffüz Tip Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açidan Değerlendirilmesi.....	54
4.9.	Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin İntestinal Tip Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açidan Değerlendirilmesi.....	55
4.10.	Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi	55
5.	TARTIŞMA.....	60
6.	SONUÇ.....	67
7.	KAYNAKLAR	68
	ETİK KURUL ONAYI	89
	ÖZGEÇMİŞ	91

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. Gastrik Kanseri TNM Sınıflaması	8
Tablo 2. Gastrik Kanserde Lenf Nodu İstasyonları	15
Tablo 3. Gastrik Kanserde miRNA Fonksiyonları	25
Tablo 4. Gastrik kanserlerde tanı ve prognoz ile ilişkili miRNA'lar.....	30
Tablo 5. Tanı ve prognostik kullanım amaçlı önerilerin miRNA'lar ve sensitivite, spesifite değerleri	33
Tablo 6. Klinik olarak kullanımı önerilen dolaşımdaki miRNA'lar	33
Tablo 7. miR-101-3p miRBase Bilgileri	33
Tablo 8. miR-101-3p ile ilgili çalışmalar.....	34
Tablo 9. miR-146a-5p miRBase Bilgileri	34
Tablo 10. miR-146a-5p ile ilgili çalışmalar.....	35
Tablo 11. miR-148a-3p miRBase Bilgileri	35
Tablo 12. miR-148a-3p ile ilgili çalışmalar.....	35
Tablo 13. miR-200a-3p miRBase Bilgileri	36
Tablo 14. miR-200a-3p ile ilgili çalışmalar.....	36
Tablo 15. miR-21-5p miRBase bilgileri	36
Tablo 16. miR-21-5p ile ilgili çalışmalar.....	37
Tablo 17. miR-21-5p miRBase Bilgileri	37
Tablo 18. miR-21-5p ile ilgili çalışmalar.....	38
Tablo 19. miR-203a-3p miRBase Bilgileri	38
Tablo 20. miR-203a-3p ile ilgili çalışmalar.....	39
Tablo 21. miR-27a-3p miRBase bilgileri	39
Tablo 22. miR-27a-3p ile ilgili çalışmalar.....	39
Tablo 23. miR-17-5p miRBase Bilgileri	40
Tablo 24. miR-17-5p ile ilgili çalışmalar.....	40
Tablo 25. Olguların demografik ve klinik özelliklerinin değerlendirilmesi	47
Tablo 26. Olguların Patolojik Özellikleri	48
Tablo 27. Hastaların Uzun Dönem Sonuçları	48
Tablo 28. Grupların Ortalama Ct, ΔCt , $2^{-\Delta Ct}$ Değerleri	49
Tablo 29. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması	49
Tablo 30. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Erken Gastrik Kanseri Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması.....	51
Tablo 31. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Kardiyak Gastrik Kanseri Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması.....	53
Tablo 32. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Nonkardiyak Gastrik Kanseri Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması.....	54
Tablo 33. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Diffüz Tip Gastrik Kanseri Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması.....	54
Tablo 34. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin İntestinal Tip Gastrik Kanseri Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması.....	55

Tablo 35. Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$) ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi - 1.....	56
Tablo 36. Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$) ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi - 2.....	56
Tablo 37. Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$) ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi - 3.....	57
Tablo 38. Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$) ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi - 4.....	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Bormann Sınıflaması	6
Şekil 2. Midenin Lenfatik Drenajı	16
Şekil 3. Gastrik karsinogeneizde <i>Helicobacter pylori</i> enfeksiyonunun mikroRNA (miRNA) regülasyonu üzerine etkileri	23
Şekil 4. Gastrik kanserlerde epigenetik değişikliklerle miRNA'ların serbestleştirilmesi	24
Şekil 5. Gastrik karsinogeneizde defektif miRNA yolağı.....	24
Şekil 6. miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Dağılımı.....	50

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Neoadjuvan kemoterapi ya da radyoterapi uygulanmayan, yeterli lenfadenektomi ile cerrahi rezeksiyon uygulanan hastalarda patolojik evrelere göre genel sağkalım	17
Grafik 2. Cerrahi öncesi kemoterapi ve/veya radyoterapi alan hastalarda evrelere göre genel sağkalım	18
Grafik 3. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Kontrol Grubuna Göre Fold Change Oranlarının Grafiksel Dağılımı	50
Grafik 4. Erken Gastrik Kanserli Hastalarda Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Kontrol Grubuna Göre Fold Change Oranlarının Grafiksel Dağılımı	52
Grafik 5. miR-106b-5p Serum Ekspresyon Düzeyi ile Tümör Lokalizasyonu Arasındaki İlişkinin ROC Analizi	58
Grafik 6. miR-146a-5p Serum Ekspresyon Düzeyi ile Tümör Lokalizasyonu Arasındaki İlişkinin ROC Analizi	58
Grafik 7. miR-27a-3p Serum Ekspresyon Düzeyi ile Tümörün T Evresi Arasındaki İlişkinin ROC Analizi	59
Grafik 8. miR-148a-5p Serum Ekspresyon Düzeyi ile Tümörün T Evresi Arasındaki İlişkinin ROC Analizi	59

KISALTMALAR

miRNA	mikroRNA
EBV	Epstein-Barr Virüs
AJCC	American Joint Committee on Cancer
UICC	Union for International Cancer Control
BT	Bilgisayarlı Tomografi
EUS	Endoskopik Ultrasonografi
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
EMR	Endoskopik Mukozal Rezeksiyon
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
CEA	Karsinoembriyogenik Antijen
CA 125	Glikoprotein CA 125 Antijeni
CA 19-9	Karbonhidrat Antijen 19-9
CA 72-4	Kanser Antijeni 72-4
AFP	Alfa-Fetoprotein
HCC	Hepatosellüler Kanser
EGK	Erken Gastrik Kanser
ESD	Endoskopik Submukozal Diseksiyon
mRNA	Messenger Ribonükleotid Asit
RT-PCR	Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
CAF	Kanser İlişkili Fibroblastlar
LMN	Lenf Nodu Metastazı

GASTRİK KANSER OLGULARINDA SERUM MİRNA DÜZEYLERİ VE PROGNOTİK
FAKTÖRLER ARASINDAKİ İLİŞKİNİN GÖSTERİLMESİ
(Uzmanlık Tezi)

Dr. A. Çağrı BÜYÜKKASAP

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ABD
Mart 2018

ÖZET

Giriş: Gastrik kanserler dünya çapında önemli bir kanser türü olarak yerini korumaktadır. Gastrik kanserli hastalarda günümüzde kullanılan noninvaziv serolojik belirteçlerin (ör. CEA, CA 19-9 gibi) tanı ve prognoz belirlemede düşük sensitivite ve spesifiteye sahip olması nedeniyle tanı, tedavi takibi, nüks saptama amaçları için kullanılabilecek biyobelirteçlere hala ihtiyaç duyulmaktadır.

Son yıllarda mikroRNA'ların (miRNA) farklı vücut sıvılarındaki düzeyleri ile kanserin patolojik özellikleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu kanıtlanmıştır. Ancak miRNA'ların cerrahi yönetimi etkileyebilecek parametreler ile ilişkisi konusunda oldukça sınırlı veri vardır. Sonuç olarak, bu çalışmamızda serum miRNA ekspresyon düzeylerinin gastrik kanserlerde tanı, cerrahi yönetimi ve prognozu etkileyen patolojik özellikleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Materyal - Metod: Eylül 2015 – Aralık 2018 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Kliniğinde gastrik adenokarsinom nedeniyle total gastrektomi ve D2 lenf nodu diseksiyonu yapılan 35 hasta ve 33 kontrolün serum miRNA ekspresyon düzeyleri (miR-101-3p, miR-146a-5p, miR-148a-3p, miR-200a-3p, miR-21-5p, miR-106b-5p, miR-203a-3p, miR-27a-3p, miR-17-5p) karşılaştırıldı. Ardından serum miRNA ekspresyon düzeyleri ile operasyon sonucu elde edilen patolojik prognostik faktörler arasındaki ilişki değerlendirildi.

Bulgular: Serum miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-146a-5p, miR-148a-3p, miR-203a-3p ekspresyon düzeyleri gastrik kanser hastalarında anlamlı şekilde yüksekti. Serum miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-106b-5p, miR-146a-5p, miR-148a-3p ekspresyon düzeyleri erken gastrik kanser hastalarında anlamlı şekilde yüksekti. Serum miR-106b-5p ve miR-146a-5p düzeylerinin tümör lokalizasyonu (AUC: 0,773; 0,797; p: 0,049; 0,036); serum miR-27a-3p ve miR-148a-5p düzeylerinin de tümörün T evresi ile ilişkili olduğu görüldü (AUC: 0,748; 0,729; p: 0,036; 0,049).

Sonuç: Bu çalışmada serum miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p ve miR-203a-3p ekspresyon düzeylerinin gastrik kanserlerde tanısal biyobelirteçler olduğunu; serum miR-106b-5p, miR-146a-5p, miR-27a-3p, miR-148a-5p ekspresyon düzeylerinin de tanısal olmakla birlikte cerrahi yönetimi etkileyebilecek prognostik biyobelirteçler olduğunu gösterdik.

Anahtar Sözcükler: Gastrik kanser, mikroRNA, Prognoz

THE RELATIONSHIP BETWEEN SERUM MIRNA LEVELS AND PROGNOSTIC FACTORS IN
GASTRIC CANCER
(Thesis in General Surgery)

Ahmet Çağrı BÜYÜKKASAP, MD

Gazi University Faculty of Medicine
Department of General Surgery
March 2019

ABSTRACT

Introduction: Gastric cancers are a major cancer in the world. Because of the low sensitivity and sensitivity of the noninvasive serological markers (eg CEA, CA 19-9) used in patients with gastric cancer, there is still a need for biomarkers that can be used for diagnosis, treatment follow-up, and relapse detection purposes.

In recent years, it has been shown that there is a significant relationship between the levels of microRNAs and the pathological features of cancer. However, there is very limited data on the relationship between serum miRNA expression levels and pathological prognostic parameters that may affect surgical management. In conclusion, the aim of this study was to evaluate the relationship between serum miRNA levels and the pathological properties of gastric cancers in diagnosis, surgical management and prognosis.

Material and Method: Serum miRNA expression levels of 35 patients who underwent total gastrectomy and D2 lymph node dissection for gastric adenocarcinoma at Gazi University Faculty of Medicine Department of General Surgery between September 2015 and December 2018 and 33 controls were compared. After, the relationship between serum miRNA expression levels and pathological prognostic factors were evaluated.

Results: Serum miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-146a-5p, miR-148a-3p, miR-203a-3p expression levels were significantly higher in gastric cancer patients. Serum miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-106b-5p, miR-146a-5p, miR-148a-3p expression levels were significantly higher in early gastric cancer patients. Serum miR-106b-5p and miR-146a-5p levels were associated with tumor localization (AUC: 0,773; 0,797; p: 0,049; 0,036); serum miR-27a-3p and miR-148a-5p levels were associated with T stage of the tumor (AUC: 0,748; 0, 729; p: 0,036; 0,049).

Conclusion: In this study, we showed that serum miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p and miR-203a-3p levels were diagnostic biomarkers in gastric cancers. However, we have shown that serum miR-106b-5p, miR-146a-5p, miR-27a-3p, miR-148a-5p levels are prognostic biomarkers that may affect surgical management, although they are diagnostic.

Key Words: Gastric cancer, microRNA, prognosis

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gastrik kanserler dünya çapında önemli bir kanser türü olarak yerini korumaktadır. 2018 verilerine göre Dünyada en sık tanı konulan beşinci kanser olmakla birlikte kanser ilişkili ölümlerde üçüncü sıradadır [1]. Gastrik kanserlere bağlı ölüm oranları azalmış olsa da yetersiz klinik semptomlar ve buna bağlı olarak geç başvuru nedeniyle çoğu gastrik kanser hastası ileri evrelerde tanı alır. Progresyon ve tümör evresi gastrik kanserli hastalarda sağkalımı etkiler [2, 3].

Gastroskopi ve biyopsi klinikte en çok kullanılan tanısal yöntemlerdir. Ancak düşük sensivite, yüksek maliyet ve yetersiz performans nedeniyle kötü prognozla sonuçlanabilmektedir [4]. Gastrik kanserli hastalarda noninvaziv serolojik belirteçler olan serum pepsinojen, gastrin-17, CEA ve CA 19-9 gastrik kanser tanısında ve prognoz belirlemede düşük sensivite ve spesifiteye sahiptir [5, 6]. Bu nedenle tanı, tedavi takibi, nüks saptama amaçları için kullanılabilecek faydalı biyobelirteçlere hala ihtiyaç duyulmaktadır [7, 8].

Son yıllarda mikroRNA'ların (miRNA) keşfi ile birlikte tümör supressor ya da onkogen olarak işlevleri görülmüş, çeşitli hastalıklarla ilişkileri ispatlanmıştır [9, 10]. Kanser biyogenezi, progresyon, migrasyon gibi hücre siklusundaki işlevleri nedeniyle tanı ve prognoz için biyobelirteç olarak kullanılabilecekleri gündeme gelmiş; farklı vücut sıvılarındaki miRNA'ların kanserin patolojik özellikleri ile aralarında anlamlı bir ilişki olduğu kanıtlanmıştır [11-13]. Bu süreçte dolaşımdaki miRNA'ların dokudaki miRNA'lara göre stabiliteleri, kolay ve noninvaziv biçimde elde edilebilir olmaları, tekrarlayan ölçüm şansına sahip olunması nedeniyle tanı ve prognostik biyobelirteç olarak kullanımlarına dair çalışmalar hız kazanmış, bazı miRNA türlerinin serum düzeylerinin gastrik kanserler de dahil olmak üzere çoğu kanser türünde tanı, prognoz ve tedavi takibi için kullanışlı bir biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir [8, 14, 15].

Günümüze kadar tanımlanmış 38589 adet miRNA alt tipi mevcuttur [16]. Bu alt tiplerin bir kısmının dolaşımdaki düzeylerinin gastrik kanserlerin tanı, tedavi ve

prognoz sürecinde anlamlı olduğu bulunmuştur. Ancak cerrahi parametreler (ör. lenf nodu metastazı, cerrahi diseksiyon genişliği) ile ilişkisi konusunda oldukça sınırlı veri vardır. Sonuç olarak, bu çalışmamızda gastrik kanserlerin tanısı, cerrahi yönetimi ve prognozu etkileyen patolojik özellikleri ile serum miRNA düzeyleri ile ilişkisinin değeriendirilmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gastrik Kanserler

2.1.1. Genel bilgiler ve epidemiyoloji

Gastrik kanserin Antik Mısır'dan gelen hiyeroglifler ve papirüsler incelendiğinde M.Ö. 3000'lerde tanımlandığı görülmektedir. 1760-1839 yılları arasında yapılan kanser insidansı ve mortalite üzerine yapılan ilk büyük istatistiksel incelemede de en yaygın ve en letal kanser türü olarak bulunmuştur ve hala malign hastalıklar içindeki önemini korumaktadır [17].

2018 GLOBOCAN verilerine göre 2018 yılında 1000000'dan fazla yeni tanı konulduğu ve yaklaşık 783000 ölüme sebebiyet verdiği düşünülmektedir. Bu verilerle en fazla tanı konulan beşinci kanser olmakla birlikte kanser ilişkili ölümlerde üçüncü sıradadır. Erkeklerde kadınlardan 2 kat daha sık görülmektedir. Erkekler arasında İran, Türkmenistan ve Kırgızistan da dahil olmak üzere bazı Batı Asya ülkelerinde en sık görülen kanser ve kanser ilişkili ölümün en sık nedenidir. İnsidans oranları Doğu Asya'da belirgin bir şekilde artmaktadır (örneğin; Moğolistan, Japonya ve Kore Cumhuriyeti). Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve Afrikadaki oranları genellikle düşüktür [1].

Dünyada gastrik kanser insidansı son birkaç on yılda hızla azalmıştır [18-20]. Bu düşüşün *H. pylori*, diyetle ve çevre ile ilgili risk faktörlerinin tanımlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir [17]. Ancak bakıldığında gastrik kanser insidansının azalmaya başlamasının *H. pylori*'nin keşfinden önceye dayandığı görülmektedir. Bir hipoteze göre buzdolaplarının popülerleşmesi düşüş için önemli bir nokta oluşturmaktadır. Buzdolaplarının yaygınlaşması gıda depolanmasını geliştirmiş, gıdaların tuzla korunmasını azaltmış, bakteriyel ve fungal kontaminasyonu önlemiş ve besinlerin antioksidan miktarlarını yüksek tutmuştur ve böylece gastrik kanser insidansında azalma sağlamıştır [21, 22].

Gastrik kanser insidansı oranlarındaki bölgesel değişimi açıklamak için yapılan birçok göçmen çalışması, bu değişimde güçlü bir çevresel bileşen olduğunu belgelemiştir. Kolonel ve ark. yaptıkları çalışmada birinci nesil Hawaii'ye gelen Japon göçmenler arasında gastrik kanser insidansı oranları, Japonya'da yaşayan Japonlara oranla daha düşük olduğunu gözlediler. İkinci nesilde ise Hawaii doğumlu Japonlarda, oranlar daha yüksek olmasına rağmen, ilk nesile göre daha düşüktü [23].

Gastrik kanserler genellikle 2 topografik kategoride sınıflandırılmıştır. Nonkardiyak gastrik kanser oranları (daha distal bölgelerden kaynaklanan), çoğu popülasyonda, son yüz elli yıldır düzenli olarak düşmektedir. Bu durum, *H. pylori* prevalansının azalması, gıdaların korunmasındaki ve depolanmasındaki iyileştirmelere bağlanmaktadır [24]. Gastrik kardiyanın kanserleri, özofagus adenokarsinomu ile benzer epidemiyolojik özelliklere sahiptir; obezite, gastroözofageal reflü, Barrett özofagusu riski arttırdığı düşünülmektedir. Bu bölgenin kanserlerinin görülme sıklığı özellikle yüksek gelirli ülkelerde artmaktadır [25].

2.1.2. Risk faktörleri ve patogenezi

Helicobacter pylori, gastrik kanser için ana risk faktörüdür. Nonkardiyak gastrik kanser vakalarının yaklaşık % 90'ının sebebidir [26, 27]. *H. pylori*'nin yanı sıra risk faktörleri arasında diyet de önemli bir bileşendir. Tuzlanarak korunan gıdaların tüketimi, düşük meyve tüketimi, alkol tüketimi, aktif tütün içiciliği de risk faktörleridir [28, 29].

Gastrik kanserlerin iki ana histolojik türü vardır. En sık rastlanan intestinal tiptir. İntestinal sistemde ortaya çıkan adenokarsinomlara morfolojik olarak benzerliği nedeniyle bu şekilde isimlendirilmiştir. Daha nadir görülen diffüz tip ise glandüler yapılar oluşturmamasına sebebiyet veren hücreler arası bağlantıların kaybı ile karakterizedir. Herediter dif diffüz gastrik kanserli hastalarda ise bu adezyonun kaybı E-cadherin'deki (CDH1) mutasyona bağlıdır [30].

İntestinal tip gastrik kanserlerin altında yatan moleküler olayların sırası tam anlaşılamamıştır ancak E-cadherin anormallliği ile karakterize diffüz tip gastrik

kanserlerin moleküler patogenezi ile daha fazla bilgi mevcuttur. İntestinal tip gastrik kanserler oluşturulan bir model sırasıyla kronik gastrit, kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi, adenokarsinom şeklinde bir gelişimi tanımlamaktadır [31].

Kronik *H. pylori* enfeksiyonunun yol açtığı kronik süperfisiyal gastrit, pernisiyöz anemi, uzun süreli yüksek tuzlu diyetin kronik atrofik gastrit ve intestinal metaplazi oluşumuna yol açar.

Atrofik gastrik, parietal ve chief hücrelerin kaybıyla birlikte glandular epitelin progresif atrofisi ile karakterize otoimmün bir hastalıktır. Gastrik mukozanın normal ekzokrin bezlerinin kaybı, hipoklorhidriye ve gastrik pH'ta artışa sebep olur. Midede anormal derecede yükselen pH, mikrobiyal kolonizasyona izin verir, bu da genetik nitrozasyonla sonuçlanır. Sonuç olarak gastrik adenokarsinom riski 3 ile 18 kat artmaktadır [30].

Midede en sık görülen metaplazi şekli intestinal tiptir. *H. pylori* enfeksiyonu veya safra reflüsü sonucu oluşmaktadır [32]. İntestinal metaplazi, gastrik kanser görülme sıklığı yüksek olan ülkelerde daha sık görülmekte ve deneysel hayvan modellerinde gastrik kanser oluşumunda önce gelmektedir [33, 34]. İnsanlardan elde edilen veriler de intestinal metaplazinin gastrik kanser oluşumu için öncü lezyon olduğunu desteklemektedir [35, 36].

Gastrik mukozanın yüksek dereceli displazisi tanısı konan çoğu hastada ilerleyen dönemlerde gastrik kanser gelişmektedir. Gastrik kanser için yapılan gastrektomi örneklerinde, hastaların %20-40'ında eşlik eden displazi vardır. Displaziden gastrik kansere ilerleme oranları, sırasıyla hafif, orta ve şiddetli displazi vakaları için %21, 33 ve 57 olarak tahmin edilmektedir [37].

Çevresel risk faktörleri olarak diyet, obezite, sigara tüketimi, mesleki maruziyetler, *H. pylori*, EBV, alkol tüketimi, sosyoekonomik düzey ve gastrik cerrahiler sayılabilir.

Çalışmalar yüksek tuz alımının ve tuzlanarak korunan gıdaların alımının gastrik kanser riskini artırdığını göstermiştir [38-43]. Tuzun ve *H. pylori*'nin sinerjistik

etkisi bazı çalışmalarda tanımlanmıştır [42]. Yüksek tuz alımının mide mukozasına zarar verdiği ve kanserojen duyarlılığı artırdığı gösterilmiştir [44, 45].

2.1.3.Klinik zellikler

Kilo kaybı ve dirençli karın ağrısı tanı anında en sık görülen semptomlardır. Bulantı, disfaji, melena, erken doyma, ülser tipi ağrı ise diğer görülen semptomlardır [46]. Kilo kaybı katabolizmanın artmasından ziyade yetersiz kalori alımı, bulantı, karın ağrısı, erken doyma ve disfaji ile ilişkilendirilmektedir. Karın ağrısının şiddeti ise hastalığın evresi ile artmaktadır. Disfaji ise proksimal gastrik kanserlerde sık görülmektedir. Bulantı ve erken doyma tümöre bağlı olabileceği gibi *linitis plastica* adı verilen yaygın gastrik kansere bağlı olarak midenin yeterince genişleyememesine bağlı olarak da görülebilir. Ayrıca distal midenin tümörleri de obstrüksiyona yol açabilir.

Auerbach pleksusunun tutulumuna ya da gastroözefageal bileşke tümörlerinin obstrüksiyonuna bağlı psdoakalazya sendromu görülebilmektedir. Bu nedenle akalazya semptomları ile başvuran yaşlı hastalarda malignite akla getirilmelidir [47].

Hastaların yaklaşık %25'inde mide ülseri öyküsü bulunmaktadır. Bu nedenle iyileşme tamamlanana kadar ülserleri takibi yapılmalı, dirençli ülserlerde cerrahi tedavi dşnlmelidir [46].

Hastalar metastatik hastalığa bağlı semptomlarla da başvurabilir. Gastrik kanserlerin en sık metastaz yaptığı yerler karaciğer, periton boşluğu ve uzak lenf nodlarıdır. Daha az sıklıkla overlere, merkezi sinir sistemine, kemiklere, akciğerlere ve yumuşak dokulara metastaz yapabilir. Fizik muayenede supraklavikular lenfadenopati (Virchow nodülü), periumblikal nodül (Sister Mary Joseph nodülü), sol aksiler lenfadenopati (Irish nodülü), peritoneal yayılıma bağlı olarak palpable overler (Krukenberg tümörü), rektal muayenede cul-de-sac'ta kitle (Blumer rafı), peritoneal karsinomatozise bağlı asit, palpable karaciğer kitleleri görülebilir [48-52].

Paraneoplastik olarak seboreik keratoz (Leser-Trélat bulgusu), akantozis nigricans, mikroanjiopatik hemolitik anemi, membranöz nefropati, hiperkoagülabilité (Trousseau's sendromu), poliarteritis nodosa görülebilir [53-58].

2.1.4.Tanı

Gastrik kanserli hastaların çoğu semptomatiktir ve ileri evrelerde tanı almaktadır. Tanı anında, hastaların yaklaşık %50'sinde lokorejyonel yayılım mevcuttur. Bu hastalarında sadece yarısı küratif rezeksiyon şansına sahip olabilmektedir. Cerrahi olarak tedavi edilebilen erken gastrik kanserler genellikle asemptomatiktir ve nadiren tarama programları dışında saptanırlar. Japonya, Venezuela ve Şili gibi görülme sıklığı yüksek olan ülkelerde tarama programları uygulanmaktadır.

Endoskopi doku tanısı ve anatomik lokalizasyon için en ideal yöntemdir. Daha invaziv ve daha maliyetli olmasıyla birlikte gastrik, özefageal ve duodenal lezyonların belirlenmesinde daha sensitif ve spesifiktir. Gastrointestinal semptomlarla başvuran hastalarda erken yapılan endoskopi erken gastrik kanserlerin yakalanma şansını artırır. Endoskopi sırasında biyopsi alabilme olanağı klinik fayda sağlamaktadır. Malign ülserlerin %5'inden fazlası endoskopik olarak benign görünümlü olduğundan bütün lezyonların biyopsi ile incelenmesi önerilmektedir. Lezyondan tek biyopsi almanın sensitivitesi %70'lerdeyken, ülser kenarından ve tabanında yedi biyopsi gerçekleştirilmesi duyarlılığı %98'e çıkarmaktadır. Diffüz tip gastrik kanserler submukoza ve muscularis propria tabakalarında ilerledikleri için endoskopik olarak tanı almaları zordur. Şüphelenilen olgularda şerit ve derin biyopsiler alınmalıdır [59, 60].

Baryumlu görüntülemeler malign ülserleri, infiltratif lezyonlar ve bazı erken gastrik kanserleri gösterebilir. Ancak yanlış negatiflik oranlarının %50'lere varması nedeniyle endoskopiye göre geri planda kalmıştır. Endoskopik olarak tanı konulamayan linitis plastica olguları faydalı olabilmektedir [61, 62].

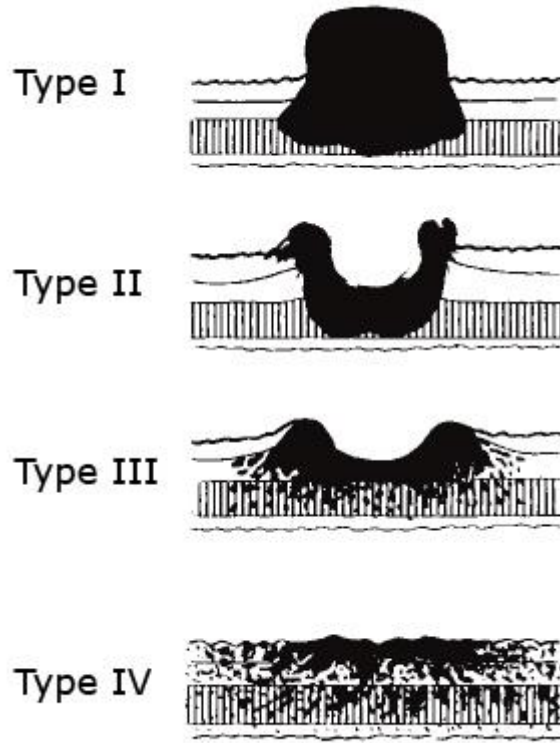
2.1.5. Gastrik kanser sınıflaması

2.1.5.1. Lauren sınıflaması

Histolojik olarak gastrik kanserler Lauren sınıflamasına göre intestinal (iyi, orta, kötü diferansiye) ve diffüz (andiferansiye, taşlı yüzük hücreli) olarak sınıflandırılmaktadır [63, 64].

2.1.5.2. Borrmann sınıflaması

Gastrik adenokanserler için birçok makroskopik sınıflama sistemi tanımlanmıştır. Bunlardan en çok kullanılan biri polipoid, fungal, ülser ve diffüz infiltratif olmak üzere 4 tip içeren Borrmann sınıflamasıdır (Şekil 1) [65].



Şekil 1. Bormann Sınıflaması

2.1.5.3. Moleküler sınıflandırma

The NIH Cancer Genome Atlas Project gastrik kanserleri dört alt moleküler sınıfta tanımlanmasını sağlamıştır. Bu tipler Epstein-Barr virüs positive (EBV; yüksek DNA hipermetilasyonu), mikrosatellit anstabil tümörler (MSI; artmış mutasyon

oranları) ve genomik olarak stabil tümörler (GS; diffüz histoloji) ve kromozomal instabiliteli tümörlerdir (CSI; intestinal histoloji). Gastrik kanserlerin genetik değişikliklerinin tam olarak anlaşılabilmesi ve sınıflandırılabilmesi gelecekte daha optimal tedaviler ve daha iyi bir prognoz sağlayacaktır [66-70].

2.1.6.Evreleme ve preoperatif değerlendirme

Gastrik kanserleri evrelemek için iki ana evreleme sistemi kullanılmaktadır. Japon sınıflaması anatomik lokalizasyonu ve lenf nodu istasyonu tutulumlarını ayrıntılandırmaktadır [71]. *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* ve *Union for International Cancer Control (UICC)* tarafından beraber yapılan sınıflama ise daha sıklıkla kullanılmaktadır.

TNM sınıflaması tümöre ait özellikleri, lenf nodu durumunu ve metastazları içermektedir (Tablo 1) [72].

Tablo 1. Gastrik Kanser TNM Sınıflaması (AJCC 8th edition, 2017 [72])

Primer Tümör (T)			
T Kategorisi	T Kriteri		
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor		
T0	Primer tümör yok		
Tis	Karcinoma in situ: Lamina propria invazyonu olmadan intraepitelyal tümör, yüksek dereceli displazi		
T1	Tümör lamina propria, muskularis mukoza ve submukozada		
T1a	Tümör lamina propria ve muscularis mukozada		
T1b	Tümör submukozada		
T2	Tümör muskularis propriada		
T3	Tümör subserozal bağ dokuda, visseral periton ve komşu yapılarla ilişkisiz		
T4	Tümör serozada (visseral periton) veya çevre dokularla ilişkili		
T4a	Tümör serozada (visseral periton)		
T4b	Tümör çevre dokularla ilişkili		
Rejyonel Lenf Nodları (N)			
N Kategorisi	N Kriteri		
Nx	Rejyonel lenf nodu değerlendirilemiyor		
N0	Rejyonel lenf nodu metastazı yok		
N1	1 veya 2 rejyonel lenf nodu metastazı		
N2	3-6 rejyonel lenf nodu metastazı		
N3	7 veya daha fazla rejyonel lenf nodu metastazı		
N3a	7-15 rejyonel lenf nodu metastazı		
N3b	16 veya daha fazla rejyonel lenf nodu metastazı		
Uzak Metastaz (M)			
M0	Uzak metastaz yok		
M1	Uzak metastaz var		
Prognostik Evre Grupları			
Klinik (cTNM)			
T	N	M	Evre
Tis	N0	M0	0
T1	N0	M0	I
T2	N0	M0	I
T1	N1, N2 veya N3	M0	IIA
T2	N1, N2 veya N3	M0	IIA
T3	N0	M0	IIB
T4a	N0	M0	IIB
T3	N1, N2 veya N3	M0	III
T4a	N1, N2 veya N3	M0	III
T4b	Herhangi bir N	M0	IVA
Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1	IVB
Patolojik (pTNM)			
T	N	M	Evre
Tis	N0	M0	0
T1	N0	M0	IA
T1	N1	M0	IB
T2	N0	M0	IB
T1	N2	M0	IIA
T2	N1	M0	IIA
T3	N0	M0	IIA
T4a	N0	M0	IIB
T2	N3a	M0	IIIA
T3	N2	M0	IIIA

T4a	N1	M0	IIIA
T4a	N2	M0	IIIA
T4b	N0	M0	IIIA
T1	N3b	M0	IIIB
T2	N3b	M0	IIIB
T3	N3a	M0	IIIB
T4a	N3a	M0	IIIB
T4b	N1	M0	IIIB
T4b	N2	M0	IIIB
T3	N3b	M0	IIIC
T4a	N3b	M0	IIIC
T4b	N3a	M0	IIIC
T4b	N3b	M0	IIIC
Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1	IV
Post-neoadjuvan tedavi (ypTNM)			
T	N	M	Evre
T1	N0	M0	I
T2	N0	M0	I
T1	N1	M0	I
T3	N0	M0	II
T2	N1	M0	II
T1	N2	M0	II
T4a	N0	M0	II
T3	N1	M0	II
T2	N2	M0	II
T1	N3	M0	II
T4a	N1	M0	III
T3	N2	M0	III
T2	N3	M0	III
T4b	N0	M0	III
T4b	N1	M0	III
T4a	N2	M0	III
T3	N3	M0	III
T4b	N2	M0	III
T4b	N3	M0	III
T4a	N3	M0	III
Herhangi bir T	Herhangir bir N	M1	IV

Evreleme her ne kadar nihai cerrahi sonucu elde edilen patoloji ile yapılsa da klinik evreleme tedavi seçimi açısından önemlidir. Preoperatif değerlendirmenin amacı hastaları rezektable olarak kabul edilebilecek lokorejyonel (Evre I, II, III) ve sistemik (Evre IV) olarak iki grupta toplamaktır. Evre I, II, III hastalar kürabl tedaviler açısından multidisipliner değerlendirilirken, Evre IV hastalar sistemik tedaviler ve palyatif yöntemler açısından değerlendirilirler.

Abdominopelvik Bilgisayarlı Tomografi (BT) tanıdan sonra preoperatif değerlendirmede kolay ulaşılabilir olması noninvaziv olmasının da etkisiyle ilk

yapılan tetkiklerdendir. Özellikle hepatik ve adneksiyel metastazları, asiti veya uzak nodal metastazları değerlendirmek için uygundur. BT, metastatik hastalığı tanımlayarak gereksiz ameliyatları önleyebilir ancak yanlış pozitif bulgular nedeniyle yine de biyopsi doğrulaması önerilmektedir. Peritoneal metastazlar ve 5 mm'den küçük hematogen metastazlar BT'de gözden kaçabilir [73]. BT'de peritoneal ve hematogen metastaz görülmeyen hastaların yaklaşık %20 ile 30'unda laparoskopide ya da açık eksplorasyonda intraperitoneal hastalık saptanmaktadır [74-76]. BT'nin başka bir kısıtlılığı özellikle küçük tümörlerde primer tümörün invazyon derinliğini ve nodal tutulumun varlığını doğru bir şekilde değerlendirememesidir. BT, T evresini vakaların %50-70'inde doğru olarak değerlendirir. Nodal durum değerlendirmesi lenf nodu boyutu üzerinden yapılmaktadır ve 0,8 cm'den küçük lenf nodları için BT sensitivitesi düşüktür. Gastrik ve özefageal kanserlerde lenf nodu metastazı için BT'nin sensitivitesi %65-97, spesifitesi %49-90'dır [77-87].

Endoskopik ultrasonografi (EUS) özellikle erken dönem lezyonlarda (T1) invazyon derinliğini değerlendirmek için en noninvaziv yöntem olduğu düşünülmektedir [88]. Ancak lenf nodu metastazları değerlendirmesinde sensitivitesi %83, spesifitesi %67'dir [89]. Uygulayıcıya bağlı olarak bu oranlar değişebilse de EUS lenf nodu pozitifliğini değerlendirmede optimal bir yöntem kabul edilmez. EUS, erken gastrik kanserli hastalar için endoskopik mukozal rezeksiyon (EMR) planlanırken submukozal invazyonun değerlendirilmesi konusunda ön plana çıkmaktadır. Bu sebeple *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)* klavuzlarında gastrik kanserli hastaların tedavi öncesi değerlendirilmesinde önerilmektedir.

Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) gastrik adenokanserlerin preoperatif değerlendirilmesinde giderek gelişen bir tetkiktir. Lokorejyonel değerlendirmede BT ile tespit edilen lenf nodlarının malign tutulumunu doğrulamak için PET-BT faydalı olabilmektedir [90, 91]. Ancak genellikle ameliyat kararını etkilemez. Bunun nedeni tümör hücrelerinin düşük metabolik aktiviteye sahip olması durumunda yanlış negatiflik gösterebilmesidir. Ayrıca çoğu diffüz tip kanser hücreleri (taşlı yüzük hücreleri) FDG tutulumu göstermeyebilir [92-95]. PET'in temel yararı, uzak

metastazların tespiti için BT'den daha faydalı olmasıdır [95-99]. PET, peritoneal karsinomatozis için yüzde 50 sensitiviteye sahiptir. Bu nedenle evreleme laparoskopisinin yerini tutmamaktadır.

Serolojik belirteçler olarak karsinoembriyogenik antijen (CEA), glikoprotein CA 125 antijeni (CA 125), karbonhidrat antijen 19-9 (CA 19-9), kanser antijeni 72-4 (CA 72-4) serum seviyeleri gastrik kanserli hastalarda yükselebilir. Ancak düşük sensitivite ve spesifiteleri nedeniyle gastrik kanser tanısında kullanılamazlar. CEA ve CA 125 seviyeleri preoperatif tedavilerle düşebilir ancak klinik kararları genelde etkilemezler. Ancak bazı çalışmalarda preoperatif serum belirteç yüksekliklerinin prognoz açısından bağımsız bir gösterge olduğu gösterilmiştir [100-110]. Bazı gastrik kanserler yüksek serum alfa-fetoprotein (AFP) seviyeleri ile ilişkilidir ve AFP üreten gastrik kanserler olarak anlandırılırlar. Midenin hepatoid adenokarsinomları, hepatosellüler kanser (HCC) ile benzer histolojik görünüm göstermekle birlikte bundan bağımsız olarak agresif seyrederek ve kötü prognozludur [111-114]. Serum pepsinojen II artışı veya pepsinojen I : pepsinojen II oranındaki azalma tarama programlarında kullanılmış, gastrik kanser riskindeki artışı göstermiştir. Ancak mevcut sensitivite ve spesifite oranlarıyla tek başına tanı için yeterli değildir.

Evreleme Laparoskopisi, BT ve EUS'tan daha invaziv olsa da karaciğer yüzeyini, peritonu ve lokal lenf nodlarını doğrudan görebilme avantajına sahiptir. Özellikle ileri primer tümöre sahip hastalarda (T4) ve linitis plastica olgularında BT'de ve PET'te saptanamayan peritoneal yayılım oranlarının yüksek olması, ayrıca eş zamanlı peritoneal sitoloji yapılabilmesi nedeniyle evreleme laparoskopisi önerilmektedir. Evreleme laparoskopisinde peritoneal tutulumu olan ve/veya peritoneal sitolojisi pozitif olan hastalar bazı merkezlerde doğrudan neoadjuvan tedaviye yönlendirilmektedir [76, 114-119].

2.1.7. Neoadjuvan/Perioperatif kemoterapi

Bazı merkezler rezeke edilebilir klinik T2N0 ve daha yüksek evrelerde neoadjuvan tedavi önermektedir [120]. Neoadjuvan tedavi ile cerrahi sonrası

adjuvan tedaviyi karşılaştıran randomize kontrollü bir çalışma yoktur. Bununla birlikte bazı yazarlar preoperatif dönemde sistemik tedavi sağlama şansı arttığı için neoadjuvan kemoterapiyi desteklemektedir. Ancak, adjuvan tedavi öncesi cerrahi özellikle distal, klinik evrelemesi tam olarak yapılmış, büyük olmayan T2 tümörlerde ve tespit edilmiş perigastrik lenf nodu olmayan hastalar için en uygun yaklaşımdır [120].

Neoadjuvan/perioperatif kemoterapi küratif bir rezeksiyon öncesi lokal olarak ilerlemiş bir tümörün evresinin aşağı çekilmesi (downstaging) amacıyla uygulanabilir. Metastatik hastalara uygulandığı gibi nonmetastatik unrezektable hastalara da uygulanmaktadır. Neoadjuvan kemoterapinin diğer bir faydası yüksek metastaz riskine sahip hastalarda (T3, T4 tümörler, reyonel lenf nodu metastazı, linitis plastica gibi) kemoterapiden sonra uzak bir metastaz çıkması halinde gereksiz bir gastrektominin morbiditesinden kurtulabilmeleridir. Tedavi öncesi öncesi evreleme laparoskopisi şüpheli lenfadenopatisi olan, obez veya asiti olan hastalarda önerilmektedir [120]. Preoperatif kemoradyoterapi tedavisi ise genellikle lokal ileri proksimal mide ve gastroözefageal bileşke tümörlerinde önerilmektedir [120].

2.1.8. Erken gastrik kanser

Erken gastrik kanser (EGK) tanımı, lenf nodu metastazı ne olursa olsun submukozadan daha fazla derine invazyon olmayan gastrik kanserleri tanımlar (T1, herhangi bir N) [121].

EGK için tedavi yöntemleri endoskopik rezeksiyonları, cerrahiyi, *H. pylori* eradikasyonu için antibiyotik tedavisini ve adjuvan tedavileri kapsamaktadır. Endoskopik Mukozal Rezeksiyon (EMR) ve Endoskopik Submukozal Diseksiyon (ESD) ile endoskopik rezeksiyon, endoskopik rezeksiyonun küratif olabileceği, lenf nodu metastaz riskinin düşük olduğu dikkatle seçilmiş bir hasta grubunda uygulanmalıdır. Genel olarak kriterler; ülserasyon olmadan mukozal bir tümör olması, 20 mm altında çapı olması, iyi diferansiasyon ve bilinen lenfovasküler invazyonun olmamasıdır. Bu kriterleri karşılamayan hastalara gastrektomi ile birlikte lenf nodu diseksiyonu uygulanması gerekir [121]. Kriterleri değerlendirebilmek için işlem öncesi özellikle

lenfovasküler invazyon ve lenf nodu metastazı açısından iyi bir değerlendirme şarttır.

2.1.9. İnvaziv gastrik kanserlerin cerrahi yönetimi

Gastrik kanserlerde cerrahi kararı veya uygun cerrahi yöntemin seçimi tümörün lokalizasyonu, derinliği, reyonel lenf nodu tutulumu, peritoneal tutulum ve uzak metastazlara bağlıdır. Bu nedenle iyi bir preoperatif değerlendirme esastır. Tanı sonrası BT, EUS ve PET-BT en sık kullanılan evreleme yöntemleri olmakla birlikte evreleme laparoskopisi de bazı hasta gruplarında düşünülmesi gereken bir seçenektir.

Gastrik bir tümörün çevre lenf nodları ile beraber komplet cerrahi eradikasyon uzun bir sağkalım sağlamaktadır. Metastaz, major vasküler invazyon, neoadjuvan tedavi düşünülmediği ve ameliyat için tıbbi bir kontrendikasyon olmadığı sürece küratif amaçlı abdominal eksplorasyon yapılmalıdır [122].

Gastrik kanserlerde unrezektabilite kriteri uzak metastaz varlığı ve aorta, hepatic arter, çölyak trunkus, proksimal splenik arter gibi major vasküler yapıların tutulumudur. Distal splenik arter tutulumu mide, dalak ve distal pankreasın çıkarıldığı bir sol üst kadran ekzentasyonu ile enblok rezekte edilebileceği için unrezektabilite kriteri olarak kabul edilmemektedir. Mide etrafındaki lenfatik zincir geniş olduğundan tümör lokalizasyona uzak bölgelerdeki lokoreyonel lenf nodu metastazları unrezektabilite kriteri olarak değerlendirilmemelidir. Preoperatif değerlendirmelerde unrezektabilite açısından şüphe duyulması durumunda evreleme laparoskopisi ve sonucuna göre neoadjuvan kemoterapi veya kombine tedaviler cerrahi bir rezeksiyondan daha etkili olabilmektedir. Japon sınıflamasında üçüncü ve dördüncü kademe olarak tanımlanan pankreas posterioru ve inferiorundaki lenf nodları, aorta-kaval bölge lenf nodları, mediastinal lenf nodları, Porta Hepatis'teki lenf nodları cerrahi alanın dışında kabul edilirler ve unrezektabilite kriteri olabilmektedir [123].

Gastrektomi invaziv gastrik kanser tedavisi için en yaygın kullanılan yöntem olsa da yüzeysel kanserler endoskopik olarak da tedavi edilebilir. Total gastrektomi

genellikle midenin proksimal tümörlerinde tercih edilirken, distal gastrektomi korpus ve antrum tümörlerinde tercih edilmektedir. Büyük korpus tümörlerinde ve infiltratif kanserlerde total gastrektomi tercih edilmelidir. Proksimal gastrektomilerde hayat kalitesi birçok seride total gastrektomiden üstündür [124, 125]. Distal tümörler için yapılan distal gastrektomi ve total gastrektominin sağkalım açısından farklılığı sağlamadığı gösterilmiştir [125, 126].

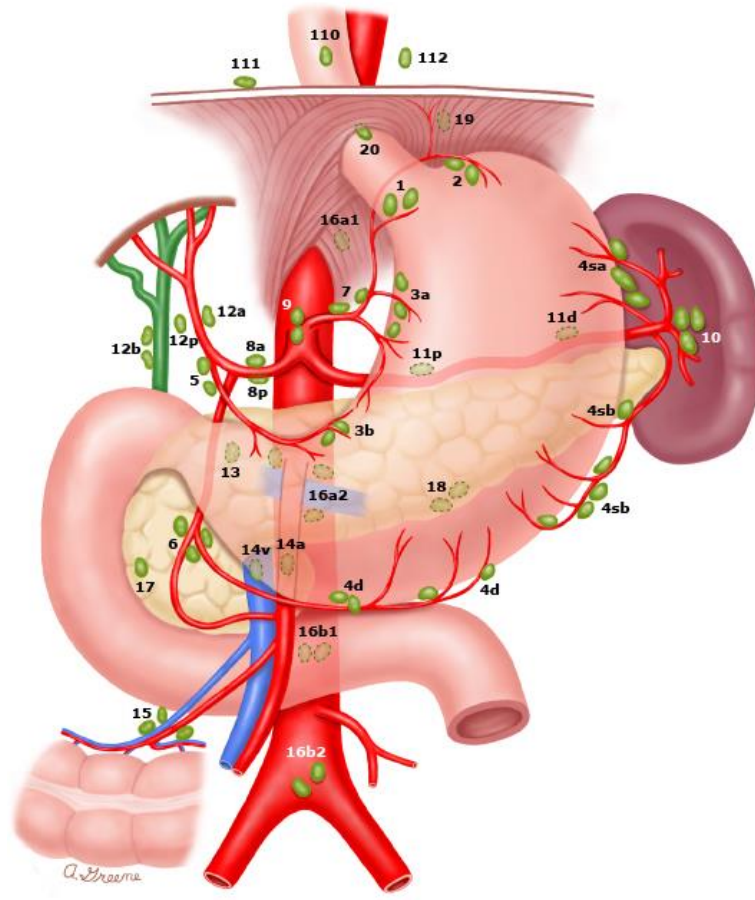
Proksimal tümörler için proksimal ve total gastrektomiye karşılaştıran bir meta-analizde her iki yöntemin benzer beş yıllık sağkalıma sahip olduğu (%39, %24) ancak daha yüksek oranda nükse sahip olduğu bildirildi. Ayrıca aynı çalışmada anastomoz darlığı ve reflü özefajit de total gastrektomiye göre yüksekti (%20, %2). Bu nedenle proksimal tümörlerde çoğu cerrah tarafından halen total gastrektomi tercih edilmektedir [127].

D2 lenfadenektominin D1 diseksiyona göre hastalığa özgü sağkalım üzerine belirgin etkisi göz önüne alındığında çoğu merkez D2 lenfadenektomi gerçekleştirmektedir. NCCN kılavuzları perigastrik (D1) lenf nodları ile beraber sol gastrik arter, ana hepatik arter, çölyak trunkus, splenik hilus ve splenik arter lenf nodlarının toplam 15 veya daha fazla lenf nodu olmak üzere çıkarılmasını (D2) önermektedir. Uygun merkezlerde yapıldığında pankreas ve dalak koruyucu D2 lenfadenektomi hem üstün bir evreleme sağlar hem de sağkalım yararı sağlayabilir. Buna rağmen D3 (paraaortik) lenfadenektominin D2 diseksiyona göre daha iyi sağkalım sağladığına dair kanıt olmamakla birlikte perioperatif artmış mortalite oranlarına sahiptir. Ayrıca gastrektomiye splenektomi veya pankreatektomi eklenmesinin pankreas ve dalağa invazyon olmadığı sürece uzamış bir sağkalım sağlamamakla birlikte morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır [122].

Midenin lenfatik drenajının olduğu istasyonlar Japon cerrahlar tarafından 16 istasyona bölünmüştür. 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 no.lu istasyonlar perigastrik iken diğer 10 istasyon major damarlar, pankreas arkası ve aort boyunca uzanmaktadır (Tablo 2) [71].

Tablo 2. Gastrik Kanserde Lenf Nodu İstasyonları [71]

İstasyon	Lenf nodu lokalizasyonu	İlişkili damar
1	Sağ parakardiyal	Assendan sol gastrik arterin ilk dalı
2	Sol parakardiyal	Sol subfrenik arterin özefagogastrik dalı
3a	Küçük kurvatur	Sol gastrik arter
3b	Küçük kurvatur	Sağ gastrik arterin distal parçası ve ikinci dalı
4sa	Sol büyük kurvatur	Kısa gastrik arterler
4sb	Sağ büyük kurvatur	Sol gastroepiploik arter
4d	Sağ büyük kurvatur	Sağ gastroepiploik arterin distal parçası ve ikinci dalı
5	Suprapiloric	Sağ gastrik arterin proksimal parçası ve ilk dalı
6	İnfrapiloric	Sağ gastroepiploik arterin proksimal parçası ve ilk dalı
7		Sol gastrik arter
8a	Anteriosuperior	Ana hepatik arter
8b	Posterior	Ana hepatik arter
9		Çölyak arter
10	Splenik hilus	Pankreas kuyruğuna doğru splenik arterin distali ve kısa gastrik arterlerin kökleri
11p	Pankreas kenarı boyunca	Proksimal splenik arter
11d	Pankreas kenarı boyunca	Distal splenik arter
12a	Hepatoduodenal ligament	Proper hepatik arter
12b	Hepatoduodenal ligament	Ana safra kanalı
12p	Hepatoduodenal ligament	Portal ven
13	Pankreas başı posterioru	
14v	Mezenter kökü	Superior mezenterik ven
15	Kolonik	Middle kolik ven
16a1	Paraaortik, diyafragmatik hiatus	
16a2	Paraaortik	Çölyak arter – Sol renal ven
16b1	Paraaortik	Sol renal ven – İnferior mezenterik ven
16b2	Paraaortik	İnferior mezenterik arter – Aortik bifurkasyon
17	Pankreas kılıfının içinde pankreas ön yüzü	
18	Pankreas gövdesinin inferior kenarı boyunca	
19	İnfradiyafragmatik	Subfrenik arter
20	Paraözefageal, diyafragmatik özefageal hiatusun içinde	
110	Paraözefageal, toraksın içinde	
111	Supradiyafragmatik	
112	Posterior mediastinal	



Şekil 2. Midenin Lenfatik Drenajı [128]

D1 lenfadenektomi sınırlı bir diseksiyonu tanımlarken (no. 1-7), D1+ lenf adenektomide 8a, 9 ve 11p no.lu istasyonlar da dahil edilir. D2 lenfadenektomi ise geniş bir lenf nodu diseksiyonudur ve 1'de 12 no.lu lenf nodlarını istasyonlarını kapsar. D3 lenfadenektomi ise 1'den 16 no.lu istasyonlara kadar çok geniş bir diseksiyonu tanımlar [122].

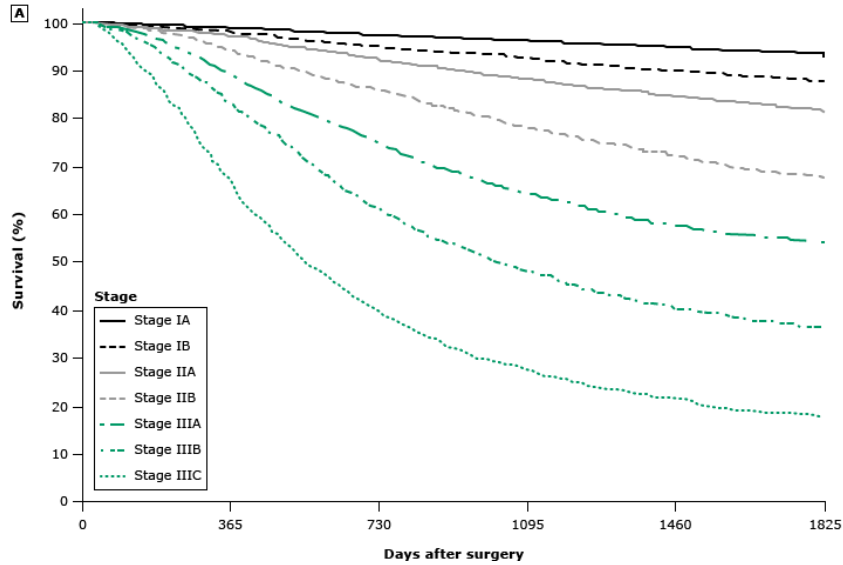
D1 ve D2 lenf nodu diseksiyonları karşılaştıran çalışmalarda, D2 lenfadenektominin sağkalım lehine bir miktar avantajlı olduğu bulunsa da postoperatif mortalite oranının yüksek olması nedeniyle hastalığa özgü sağkalım dengelenmektedir. Bu konudaki iki ana çalışma *Dutch Gastric Cancer Group* ve *Medical Research Council* çalışmaları, D2 lenadenektominin sağkalıma anlamlı bir fark katmadığını ancak postoperatif morbidite ve mortaliteyi artırdığını göstermişlerdir. Ardından *Dutch Gastric Cancer Group* çalışmasının 15 yıllık sonuçları

güncellenmiş; tüm sağkalım arasında anlamlı fark görülmemiştir (D1: %22, D2:%28; p: 0.34). Bununla birlikte gastrik kanser ilişkili ölüm oranı D1 grubunda daha yüksekti (%48; %37). Bu çalışmalar D2 diseksiyonun düşük postoperatif morbidite ve mortalite ile yapılması halinde D1 diseksiyona göre sağkalım açısından avantajlı olduğunu göstermektedir [129-132].

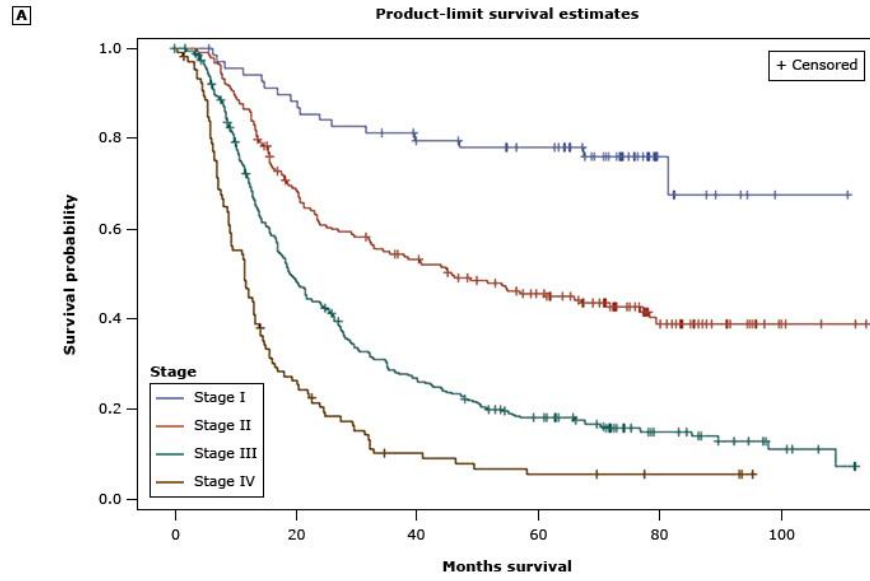
2.1.10. Prognoz

Rezeksiyon sonrası prognoz hastalığın patolojik derecesine, tümör lokalizasyonuna ve topluma göre değişmektedir. Asya toplumlarında Batı toplumlarına prognoz daha iyidir. Evrelere göre dağılımın bu farklılığı oluşturduğu düşünülse de aynı evrelerde dahi sonuçlar farklılık göstermektedir [133, 134]. Proksimal tümörler ise distal tümörlerden daha kötü prognozludur [135].

2017 AJCC Cancer Staging Manual, 8th'de neoadjuvan tedavi almayan ve alan cerrahi rezeksiyon yapılan hastaların patolojik evreye göre sağkalım grafikleri yayınlanmıştır (Grafik 1, 2) [72].



Grafik 1. Neoadjuvan kemoterapi ya da radyoterapi uygulanmayan, yeterli lenfadenektomi ile cerrahi rezeksiyon uygulanan hastalarda patolojik evrelere göre genel sağkalım (*AJCC 8th edition, 2017* [72])



Grafik 2. Cerrahi öncesi kemoterapi ve/veya radyoterapi alan hastalarda evrelere göre genel sağkalım (AJCC 8th edition, 2017 [72])

Cerrahi sınır durumunun, yaş ve cinsiyetin de etkisi bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Amato ve ark. yaptıkları çalışmada cerrahi sınırın mikroskopik pozitif (R1 rezeksiyon) veya makroskopik pozitif (R2 rezeksiyon) olması kansere bağlı mortaliteyi 2.97 kat artırmaktadır. Ayrıca aynı çalışmada erkek hastaların gastrik kanserden ölme oranları kadınlara göre daha yüksekti. 59 yaş üstü hastaların ise genel sağkalımı 59 yaş altındakilere göre daha kısaydı [136].

Neoadjuvan kemoterapi ve/veya radyoterapi, adjuvan kemoterapi ve/veya rejimlerinin de daha etkili hale gelmesinin mevcut sağkalım oranlarını uzatacağı düşünülmektedir [122].

Prognozu öngörmek için geliştirilen nomogramlar hastanın yaşını, cinsiyetini, tümör lokalizasyonunu, Lauren sınıflamasını tipini, invazyon derinliğini, metastatik lenf nodu sayısını ve toplam diseke edilen lenf nodu sayısını içerecek şekilde geliştirilmiştir. Ancak çoğu nomogramın adjuvan veya perioperatif tedavileri hesaba katmadığı için prognozu öngöremediği hasta grupları mevcuttur. Bu faktörleri dikkate alacak şekilde nomogramlar geliştirilmeye devam etmektedir. Ayrıca hem klinikopatolojik hem de moleküler faktörleri dikkate alan nomogramlar geliştirilmektedir [136-143].

2.2. MikroRNA

2.2.1. Temel özellikler

MikroRNA'lar yaklaşık 22 nükleotidden oluşur ve non-coding RNAlar sınıfına dahildir. mRNA translasyonunu baskılayarak ve mRNA bozulmasını tetikleyerek mRNA ve protein ekspresyonunu negatif olarak düzenleyebilir [144]. miRNA'lar mRNA molekülünün stabilitesini sıklıkla çoğu kanser türünde olduğu gibi hedef mRNA'larına bağlanarak azaltabilir [145]. miRNA-lin-4'ün *Caenorhabditis elegans* çalışmasında keşfinden bu yana miRNA'ların differansiasyon, proliferasyon, hücre siklusu kontrolü, metabolizma, gelişme ve apoptozis gibi birçok hücresel fonksiyonda rol aldığını gösterilmiştir [146-148]. Yapılan çalışmalar miRNA'ların tümörlerin progresyon sürecinde onkojenik ya da tümör baskılayıcı genleri etkileyerek güçlü bir rolü olduğunu göstermektedir. Örneğin; miR-21, PTEN, PDCD4, FBXO11, TPM1 gibi tumor supressor genlerin downregülasyonuna yol açarak birçok malignite patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır [145]. Plazmada multipleks RT-qPCR metodu ile çeşitli miRNA'lar elde edilebilmekte bu da onları kanser tanısı ve prognozu için yeni bir biyobelirteç haline getirmektedir [8, 149-151].

2.2.2. miRNA biyosentezi ve moleküler mekanizması

2.2.2.1. miRNA biyosentezi

miRNA geni çekirdekte RNA-polimeraz II ile pri-miRNA'ya kopyalanır. Bu uzun pri-miRNA'yı nükleer endoribonükleaz Drosha, DGCR8 ile birlikte pre-miRNA'ya (yaklaşık 70 nükleotid) ayrıştırır. Ardından Exportin 5 pre-miRNA'yı sitoplazmaya taşır. Sitoplazmada Dicer isimli RNase III enzimi tarafından yaklaşık 20 nükleotidli RNA çiftlerine ayrılır. Olgunlaşan miRNA'nın iplikçiklerinden biri hedef mRNA'nın 3' UTR ucuna bağlanır. Dolayısıyla miRNA, mRNA deadenilasyonu ve bozunması yoluyla hedef genleri ekspresyonunu durdurur [151-155].

2.2.2.2. Kanserde rol oynayan mirna'ların moleküler mekanizmaları

miRNA'lar onkojen ya da anti-onkojen olarak işlev görürler. Bu tümörde aberrant DNA metilasyonu ve Histon modifikasyonu ile düzenlenir [156]. miRNA'nın

düzenlenmesi kanserdeki hedef gen ekspresyon seviyesini miRNA-mRNA, miRNA-lncRNA ve miRNA-DNA etkileşimleri gibi farklı mekanizmalarla etkiler [151].

2.2.2.2.1. miRNA-mRNA etkileşimi

Kanıtlar, olgun miRNA'nın hedef gen transkriptinin 3' UTR ucuna bağlanarak hedef protein transkripsiyonunun downregülasyonunu sağladığını göstermiştir. Bu miRNA-mRNA etkileşimi tamamlayıcı baz eşleştirmesi yoluyla çoklu gen ekspresyonunu düzenleyebilir [151].

2.2.2.2.2. miRNA-lncRNA etkileşimi

miRNA ayrıca long-noncoding RNA (lncRNA) ile de etkileşime girerek hedef mRNA'ların ekspresyonunu etkileyebilir [151]. Bazı çalışmalar gastrik kanser ile ilişkili miRNA'ların, lncRNA'lara bağlanarak hedef gen ekspresyonunu düzenleyebileceğini göstermektedir. Örneğin; gastrik kanserlerde lncRNA FER1L4'ün rekabetçi endojen RNA gibi davranarak miRNA-106a-5p'nin PTEN mRNA'sını hedeflemesini önlediği gösterilmiştir [157].

2.2.2.2.3. miRNA-DNA etkileşimi

miRNA'nın önemli mekanizmalarından biri miRNA-DNA etkileşimidir [158, 159]. Yapılan çalışmalar miRNA'nın DNA ile etkileşime girerek spesifik lokuslara yerleşebileceğini ve transkripsiyon seviyesinde gen ekspresyonunu etkileyebileceğini gösterdi. miRNA-223'ün granülositik diferansiasyon aşamasında NFI-a genini susturduğu gösterilmiştir [160]. miRNA ve DNA arasındaki özel etkileşimin daha iyi anlaşılması, miRNA'nın tümör gelişimi ve progresyonundaki rolünü anlamak için daha yararlı olabilir [151].

2.2.3. miRNA tespit etme yöntemleri

miRNA'ların anormal ekspresyonu birçok hastalıkla ilişkilidir. RNA ekzonükleaz veya RNase-R ile bozulmaya duyarlı normal RNA moleküllerinin aksine miRNA'lar vücut sıvılarında oldukça stabildir. Bu durum da miRNA'ları hastalık teşhis, tedavi ve prognoz için biyobelirteç olarak kullanabilmek için kabul edilebilir kılar [151, 161, 162]. miRNA fonksiyon çalışmaları ve hastalık tanıları için hızlı, uygun

maliyetli, spesifitesi ve sensivitesi yüksek yöntemler oluşturulmalıdır [151]. miRNA tanımlanması ve ölçülmesi için kullanılan klasik yöntemler, Northern blot, microarray, small RNA dizilimi, insitu hibridizasyon ve revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) üzerine kuruludur [163-167]. Ancak bu yöntemler invivo miRNA'ların düşük seviyeleri nedeniyle hem karmaşıktır hem de sensiviteleri düşüktür. QRT-PCR validasyonunun ardından microarray profillemesi miRNA ölçümü için standart yöntem olarak kabul edilmektedir [168].

Son yıllarda miRNA'ları tespit yöntemleri bu kısıtlılıklar üzerine geliştirilmiştir. Özellikle enzim aracılı amplifikasyon yöntemleri, "Rolling circle" amplifikasyon, "isothermal exponetial" amplifikasyon yöntemleri gibi sinyal amplifikasyon mekanizmaları üstüne çalışılmaktadır. Bu yöntemler daha yüksek spesifite ve sensiviteleri nedeniyle önem kazanmaktadır. Ayrıca nanoteknolojiye dayalı miRNA tespit yöntemleri de büyük gelişme kaydetmiştir. Ancak daha uygulanabilir ve verimli yöntemlerin geliştirilmesi hala gereklidir [151].

2.2.4. Kanserlerde miRNA'ların klinik uygulaması

2.2.4.1. Dolaşımdaki miRNA'lar

Son yıllarda dolaşımdaki miRNA'ların seviyelerindeki düzensizliğinin tarama, prognoz ve tedavi takibi için potansiyel bir belirteç olabileceğine dair çalışmalar yoğunluktadır [169]. 2007'de Valadi ve ark.'ının dolaşımdaki eksozomlarda miRNA'ları keşfi, 2008'de Chim ve ark.'ının plasental miRNA konstrasyonlarını tespit edebilebilirliğini göstermesinin ardından araştırmacılar dolaşımdaki miRNA'ların üzerine eğildiler [170, 171]. Bundan sonra, çeşitli çalışmalar kan serumu, plazması ve diğer vücut sıvıları içerisinde stabil bir formda nükleaz dirençli dolaşımdaki miRNA'ların varlığını doğruladı [12, 13, 172-174].

Dolaşımdaki miRNA'ların yüksek sıcaklıktan, pH değişikliklerinden etkilenmemesi, tekrarlayan donma-çözölmelerden etkilenmemesi, oda sıcaklığında uzun süre saklanabilmesi ve en önemlisi endojen RNase ile ayrılmayacak kadar kararlı bir formda bulunması, birçok kanserin tespiti için kullanılabilecek değerli bir biyobelirteç olabileceğini göstermiştir [169, 172, 175-177]. Bu nedenle, dolaşımdaki

miRNA'ların tespit ve analizi yeni bir noninvaziv tanı ve takip yöntemi olarak kullanılabilir.

2.2.4.2. Tedavide miRNA'nın önemi

Birçok kanser türünde miRNA'ların downregülasyonu görülmektedir. Bu nedenle 5-aza-deoxycytidine (DNA metilasyon inhibitörü), HDAC inhibitörlerinin kullanılması miRNA ekspresyonunu eski seviyesine getirerek tedavide etkin rol oynayabilir [178, 179]. Nitekim miRNA-212 ekspresyonunun düşüklüğünün ve onun prometer hipermetilasyonunun tümör progresyonu ve gastrik kanserlerde zayıf prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiş, DAC ile tedavi edilen tümör hücrelerinin invazyon ve metastaz yetenekleri azalmıştır [180]. HDAC inhibitörü miR-125a-5p seviyelerini artırarak meme kanseri hücrelerinde apoptozisi indükleyebilir [181]. Bu çalışmalar, DNA metilasyonu veya HDAC inhibitörlerinin kullanılmasının kanser tedavisi için uygun bir yaklaşım olarak kullanılabileceğini göstermektedir [151].

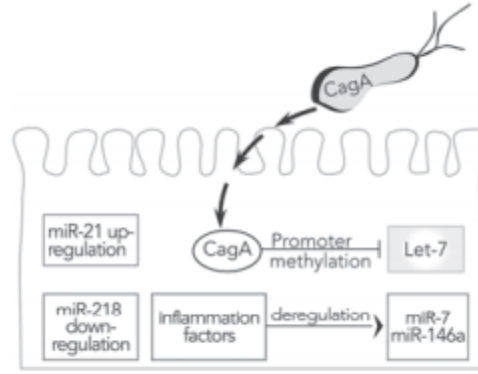
Oligonükleotid tabanlı yöntemlerle de miRNA'ların ekspresyonu inhibe edilebilir [151]. Antagomirler, endojen miRNA'ları stabilize edebilen ve etkili bir şekilde susturabilen, kimyasal olarak tasarlanmış antisens RNA oligonükleotidleridir [182, 183]. miRNA-10b antagomir ile meme kanserli farelerde uygulanmasının meme kanseri metastazını baskıladığı gösterilmiştir [183]. miRNA ekspresyonunun azaltılmasında etkili olduğu gösterilen başka bir oligonükleotid tabanlı yöntem de miRNA sponge'tır [184]. Ancak miRNA bazlı terapötiklerde ana problem, hedefte düzenleme sağlanamadan nükleaz aracılı bozulmadır. Bu nedenle çıplak miRNA'ların nükleazlardan ve diğer etkenlerden korunması için uygun bir dağıtım sisteminin tasarlanması gerekmektedir [151, 185]. Günümüzde lipid bazlı sistem, viral vektörler ve nano-taşıyıcı gibi çeşitli miRNA dağıtım sistemleri kullanılmakta ve bu konu üzerine çalışmalar devam etmektedir [185, 186].

2.2.5. Gastrik kanserlerde miRNA

2.2.5.1. Gastrik kanserlerde miRNA deregülasyon mekanizmaları

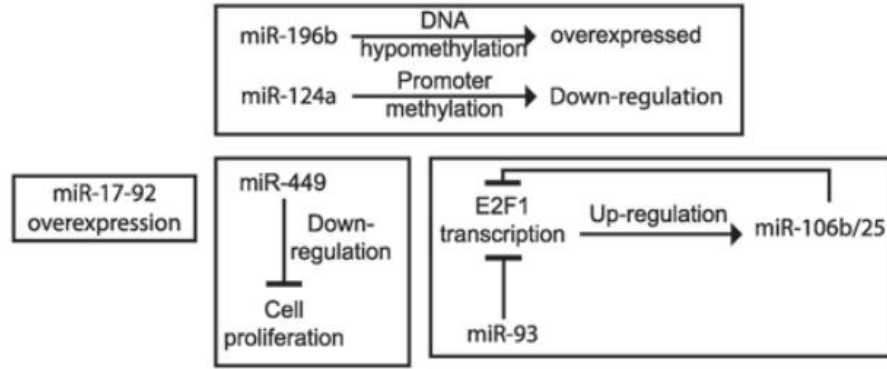
Tümörlerde azalmış veya artmış olgun miRNA'lar genellikle düzensiz transkripsiyon, epigenetik susturma, genetik kayıp veya gastrik kanserin biyogenez

yolaklarındaki bozukluğun bir sonucudur [148]. Bunlar arasında *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, epigenetik regülasyon ve miRNA biyogenez yolağındaki bozukluklar gastrik kanserde baskındır [187]. Gastrik kanser dokularında görülen miRNA profili, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında, bunun çeşitli nedenlerini ortaya koymaktadır. *H. pylori*, mide kanserogenezinde etyolojik bir faktördür. *H. pylori* ile enfeksiyonu birlikte, gastrik epitelyal dokularda ve AGS hücrelerinde miR-21 upregüle olurken miR-218 downregüle olur. *CagA* bu bakterilerin virülans faktörüdür ve let-7'nin ekspresyonunu önler. Tümörle ilişkili miR-7 ve miR-146a, *CagA* ve konakçı hücre arasındaki etkileşimle üretilen enflamasyon faktörleriyle serbestleştirilir [188-192].



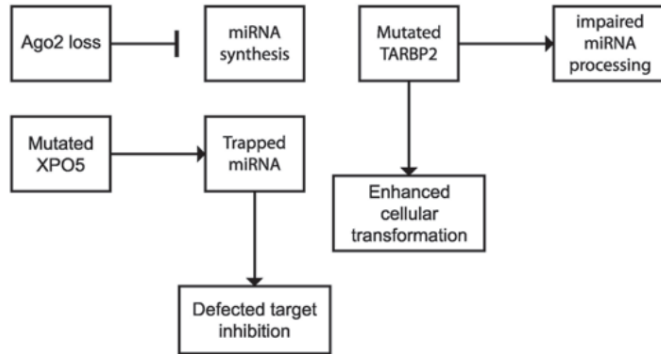
Şekil 3. Gastrik karsinogenezde *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun mikroRNA (miRNA) regülasyonu üzerine etkileri [148]

Gastrik kanserde miRNA'ların deregülasyonu için miRNA'ların epigenetik düzenlenmesi de önemlidir [148]. DNA hipometilasyonu ve promoter metilasyonu, miRNA ekspresyon profilini değiştirir; önce miR-196b'nin aşırı ekspresyonuna neden olurken sonra miR-124a'nın downregülasyonu ile sonuçlanır [193, 194]. miR-17-92 kümesi, genomdaki kırılğan bir bölgede bulunur ve gastrik kanserler de dahil olmak üzere birçok kanserde aşırı eksprese edildiği bulunmuştur [195, 196]. miR-449 hücre proliferasyonunu inhibe eder ve gastrik kanserlerde downregüle edilir [197]. E2F1 aşırı ekspresyonu, gastrik kanser için bir biyobelirteçtir ve E2F1, miR-106b/25 kümesini transkripsiyonel olarak hedefler ve upregüle eder. Artmış miR-106b/25 and miR-93 ise gastrik kanser hücrelerinde E2F1 transkripsiyonunu baskılar [198].



Şekil 4. Gastrik kanserlerde epigenetik değişikliklerle miRNA'ların serbestleştirilmesi [148]

miRNA oluşumundaki bozukluklar da miRNA deregülasyonuna katkıda bulunur. Ago2'nin kaybı, erken bir aşamada miRNA sentezinin engellenmesine neden olur [199]. Mikrosatellit instabilitesi barındıran genlerin, çerçeve kayması mutasyonlarının hedefleri olduğu ve mikrosatellit kararsız pozitif gastrik kanserlerde, biyolojik oluşum yolundaki miRNA işleme geni olan TARBP2'nin mutasyona uğradığı bulunmuştur. Bu durumda, gastrik kanserlerde bozulmuş miRNA işleme ve gelişmiş hücresel transformasyon gözlenmiştir [200]. XPO5 mutasyonunun nükleustaki miRNA'nın sitoplazmaya transportunu engelleyerek miRNA'nın hedefini inhibe etmesini önlediği gösterilmiştir [201].



Şekil 5. Gastrik karsinogenezde defektif miRNA yolağı

2.2.6. Gastrik kanserlerde miRNA hedefleri

Kanserlerdeki düzensiz miRNA'lar, hücre proliferasyonunu önleyen tümör baskılayıcılar ve büyüme ve hücre proliferasyonunu uyararak onkogenler olarak sınıflandırılabilir (Tablo 3) [148].

Tablo 3. Gastrik Kanserlerde miRNA Fonksiyonları [148, 202]

miRNA	Hedef Gen	Fonksiyon	Ref.
miR-125a-5p [down]	E2F3	Proliferasyon İnvazyon Migrasyon Metastaz	[203]
miR-126 [down]	PI3KR2 ve Crk, ve tumor suppressor PLK2.	Proliferasyon İnvazyon Migrasyon Metastaz	[204]
miR-124 [down]	Rho-associated protein kinase (ROCK1)	Büyüme ve invazyonun inhibisyonu	[205]
miR-410 [down]	MDM2	Migrasyon ve invazyonu baskılamak	[206]
miR-129-1-3p	Programmed cell death 2 (PDCD2)	Hücre proliferasyonunu tetiklemek	[207]
miR-92 [up]	Farnesoid X receptor (FXR)	Gastrik kanser hücre proliferasyonu ve invazyonu tetiklemek	[208]
miR-520d-3p [up]	EphA2	Gastrik kanser hücre proliferasyonunu, migrasyonu ve invazyonu inhibisyonu	[209]
miR-375 [down]	JAK2		[210]
miR-126 [down]	Crk (v-crk sarcoma virus CT10 oncogene homolog)		[211]
miR-129-1-3p		Hücre migrasyonu inhibisyonu	[207]
miR-155 [down]	c-myc	Hücre büyümesini hızlandırmak ve invazyon	[212]
	SMAD2	Hücre invazyonu, migrasyonu ve adhezyonu	[213]
miR-449a [down]	CDK6	Apoptosis	[214]
miR-1246, miR-302a ve miR-4448	DYRK1A		[215]
miR-30b [down]	plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)	Apoptosis	[216]
miR-421 [up]	Bax and Bcl-2	Onkogen	[217]
miR-362	NF-kappaB	Apoptosis direnci	[218]
miR-382	Phosphatase and tensin homolog (PTEN)	Angiogenesis	[219]
miR-145	Ets1 (oncogene homolog 1)	Angiogenesis	[220]
	N-cadherin, MMP-9	İnvazyon ve metastaz	[221]

miR-375	by blocking JAK2-STAT3 signaling PDK1, 14-3-3ζ	<i>Helicobacter pylori</i> ilişkili gastrik kanser oluşumunu inhibe etmek	[222, 223]
miR-204 [down]	SOX4	Gastrik kanser hücre proliferasyonu ve invazyonu tetiklemek	[224]
miR-210	STMN1 and DIMT1		[225]
miR-212 [down]	RBP2	Hücre proliferasyonu	[226]
miR-874 [down]	AQP3	Hücre proliferasyonu, migrasyon ve invazyon	[227]
miR-29c [down]	RCC2	Hücre proliferasyonu	[228]
miR-610 [down]	VASP	Hücre invazyonu ve migrasyon	[229]
miR-22 [down]	Sp-1	Hücre invazyonu ve migrasyon	[230]
miR-137 [down]	CDC42	Apoptosis	[231]
miR-34b/c [down]	CDK4, CCNF2, CCNA2	Hücre proliferasyonu	[232]
miR-129-2 [down]	SOX4	Hücre migrasyonu ve apoptosis	[233]
miR-181c [down]	NOTCH4, KRAS	Hücre proliferasyonu	[234]
miR-10b [down]	HOXD4, MAPRE1	Hücre proliferasyonu ve apoptosis	[235, 236]
miR-941 ve miR-1247 [down]	KDM6B, TAOX1, PRDM16, RARA, STX1B, RCC2	Hücre proliferasyonu ve migrasyon	[237]
miR-34c-5p [down]	MAPT	Hücre proliferasyonu	[238]
miR-219-2-3p [down]	ERB3, MAPK8, SCL7A11, YOD1, TBK1, SOX4	Hücre proliferasyonu, migrasyon ve invazyon ve apoptosis	[239]
miR-195 ve miR-378 [down]	CDK6, VEGF	Hücre proliferasyonu	[240]
miR-19a [down]	SOCS1	Hücre proliferasyonu ve tumorigenesis	[241]
miR-296-5p [down]	Caudal-related homeobox 1 (CDX1)	Hücre proliferasyonu	[242]
miR-17-5p/20a [down]	p21, TP53INP1	Hücre proliferasyonu	[243]
miR-370 [down]	Transforming growth factor-β receptor II (TGFβ-RII)	Hücre migrasyonu ve tumorigenesis	[244]
miR-301a [up]	RUNX3	Hücre proliferasyonu ve invazyonu	[245]
miR-223 [up]	EPB41L3	Hücre invazyonu ve migrasyon	[246]
miR-212 [down]	Myc	Hücre proliferasyonu	[247]

2.2.7. miRNA'nın gastrik kanserlerde kanser ilişkili fibroblastlardaki (CAF) fonksiyonu

Tümör progresyonunun tümör hücresi ve çevresindeki mikroçevre arasındaki iletişime bağlı olduğu bilinen bir bilgidir. CAF'lar tümör stromal hücrelerinin en önemlileridir ve sitokin salgılanmasını ve hücreler arası etkileşimi düzenleyerek tümör büyümesinde ve metastazında kritik rol oynar [151]. Çalışmalar CAF'lardaki miRNA disregülasyonunun gastrik kanserler de dahil olmak üzere birçok kanser

türünde ileri derecede önemli olduğunu göstermiştir [248]. Bazı miRNA'lar fibroblastların CAF'a dönüşmesinde etkin rol oynayabilir [154, 249]. Ayrıca görülmüştür ki mikroveziküllerde ya da eksozomla salınan miRNA'ların kanser progresyonunda rol almaktadır [250]. Bu nedenle CAF'lardaki miRNA'lar neoplazm gelişimi sırasında malign transformasyona neden olabilir. CAF'lar aktivasyonu aynı zamanda direkt hücreler arası etkileşim ile de tümör progresyonunu etkiler [151]. miR-21 ekspresyonunun CAF oluşumunu tetiklediği, miR-145'in skirröz tip gastrik kanserin stromal fibroblastların ekspresyonu, IL-6'nın miR-149'un hedefi olarak gastrik kanserlerde normal fibroblastları CAF'a çevirdiği gösterilmiştir [251-253]. Başka bir çalışmada gastrik kanserlerde miRNA analizinde normal fibroblastlarda karşılaştırılarda dört miRNA'nın arttığı (miR-34b, 301a, 106b ve 93), yedi miRNA'nın ise azaldığı (miR-483-3p, 26a, 7g, 148a, 145, 424 ve 214) gösterilmiştir ancak bu miRNA'ların gastrik kanserlerdeki CAF'lardaki fonksiyonlarının çoğu bilinmemektedir [151, 254]. miR-149'un tümör supressor gibi fonksiyon gösterdiği ve bazı kanser türlerinde downregülasyona uğradığı gösterilmiştir [255, 256]. Li ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada miR-149'un azalmış ekspresyonunun hem invitro hem invivo olarak tümör büyümesini artırdığı; artmış ekspresyonu ise tümör büyümesinin inhibisyonu ile sonuçlandığı görüldü [253]. İnvazyon ve metastazda da CAF'lar ile ilişkili miRNA'ların da anahtar rol oynadığı gösterilmiştir [154, 257]. Örneğin, miR-21 bir onkojen olarak birçok malign tümör dokusunda olduğu gibi gastrik kanserlerde de aşırı eksprese edilir [258]. Tümördeki miR-21'in artmış ekspresyonu azalmış sağkalımı gösterir [259]. miR-21'in gastrik kanser hastalarının kan serumunda kolayca tespit edilebileceği bulunmuş olup stromal miR-21 ekspresyon seviyesinin tümör evresi, büyüklüğü ve nodal metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [260, 261]. miR-106b'nin yüksek ekspresyonu gastrik kanserler de dahil olmak üzere tümör hücrelerinin metastazını kolaylaştırır ve kötü prognozla ilişkilidir [254, 262].

2.2.8. Gastrik kanserlerde biyobelirteç olarak miRNA'lar

miRNA'ların gastrik kanserlerde biyobelirteç olarak kullanımları tümör dokusunda ve hücre kültürlerindeki miRNA ekspresyon düzeylerinin tespiti ile başlamış ardından çeşitli vücut sıvılarındaki düzeylerinin (serum, plazma, gastrik sıvı,

peritoneal sıvı gibi) tanı ve prognoz açısından anlamlı olduğunun gösterilmesi ile devam etmiştir [263]. Ancak bunların arasında en noninvaziv biçimde elde edilebilecek olan dolaşımdaki miRNA'lar ön plana çıkmaktadır.

2.2.9. Gastrik kanserlerde dolaşımdaki miRNA düzeyleri

Gastrik kanser tanısında endoskopi ve gastroskopi en çok kullanılan efektif bir yöntem olmasına rağmen invazivdir ve sensitivitesi %69'dur. Serum tümör belirteçlerinin (CEA, CA 19-9, CA 72-4 gibi) düşük sensitiviteyi nedeniyle tanı aracı olarak kullanımları uygun değildir. Otoantikorların kullanımı da gastrik kanserlerin heterojenitesi nedeniyle kullanımı kısıtlıdır [8]. Dolaşımdaki tümör hücrelerinin de dolaşımdaki seviyelerinin düşük olması ve izolasyon zorluklarından dolayı kısıtlı kalmaktadır [264]. miRNA yüksek spesifite ve sensitivite, noninvaziv olarak elde edilebilmesi, hastalığın erken evrelerinde tespit edilebilmesi, örneklerde uzun yarılanma ömrü, hızlı ve doğru tespit edilebilmesi bu konuda bir biyobelirteçten beklenen ölçütleri karşılamaktadır [265].

Gastrik kanserlerde dolaşımdaki miRNA'larla ilgili ilk çalışma 2010'da yapıldı. Tsujiura ve arkadaşları plazmada miR-21, miR-17-5p, miR-106a, miR-106b ve let-7a seviyelerini çalışmış, postoperatif plazma örnekleri ile değişimini değerlendirmişlerdir. miR-21, miR-17-5p, miR-106a, miR-106b ekspresyon seviyelerinin arttığını let-7a ekspresyonunun azaldığını gösterdiler ve tanısal biyobelirteç olarak kullanılabileceğini önerdiler [266].

miR-1, miR-20a, miR-27a, miR-34a ve miR-423-5p beşli miRNA panelinin gastrik kanser tespitinde biyobelirteç olabileceği bildirildi [267]. Gastrik kanser tespitinde güçlü bir biyobelirteç olabilecek miR-378, Liu ve ark. tarafından tanımlandı (%87.5 sensitivite, %70.73 spesifite) [268]. Valladares-Ayerbes ve ark. ise miR-200c seviyelerinin normal gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, metastatik lenf nodu sayısı ile doğru orantılı olduğunu gösterdiler [269]. Benzer şekilde miR-16, miR-25, miR-92a, miR-451 ve miR-486-5p'yi içeren beşli miRNA panelinin de sağlıklı gruba göre gastrik kanserli grupta arttığı ve erken evre gastrik kanser tanısında başarılı olabileceği gösterildi [270]. miR-17 ve miR-106b'nin erken

gastrik kanserlerin tespitinde ve prognoz izlenmesinde biyobelirteçler olarak bildirilmiş olsa da klinikopatolojik özelliklerle anlamlı ilişki bildirilmemiştir [271, 272]. Wu ve ark. gastrik kanser hastalarının serum miR-421'in CEA ve CA-125'e göre ve miR-21'in ise CA 19-9 ve CEA'ya göre yüksek sensivite ve spesifiteye sahip olduğunu göstermişlerdir [273, 274]. miR-196a ve miR-196b'nin dolaşımdaki seviyelerinin gastrik kanserli hastalarda sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu, karsinoembriyogenik antijen (CEA) ve CA 19-9'dan gastrik kanserli hastaları sağlıklı bireylerden ayırmada daha yüksek spesivite ve sensiviteye sahip olduğu, miR-196a ve miR-196b'nin seviyelerinin arttıkça metastatik potansiyel, hastalığın evresinin arttığı, sağkalımın azaldığı gösterilmiştir [275]. Huang ve ark. 6 serum miRNA'nın (miR-10b-5p, miR-132-3p, miR-185-5p, miR-195-5p, miR-20a-3p ve miR-296-5p), gastrik kanserde normal gruba kıyasla anlamlı şekilde aşırı eksprese edildiğini tespit ettiler [276].

Prognostik bir biyobelirteç, hastanın kanser tanısı olduktan sonra, diferansiyasyon, invazyon, metastaz, TNM evresi gibi klinikopatolojik özellikler hakkında bilgi verebilmelidir. Prognostik biyobelirteçler tümörün ilerlemesi gösterir ve tedaviye yön verebilmeleri nedeniyle hastaların sağkalımını artırmaktadır [8]. Son çalışmalar miRNA'ların prognostik biyobelirteç olarak değerli olduğunu göstermiştir (Tablo 4) [277].

Tablo 4. Gastrik kanserlerde tanı ve prognoz ile ilişkili miRNA'lar

Örnek	miRNA	Klinik Uygulama	Referans
Gastrik Kanser Dokusu ve Plazma	miR-106b-25 kümesi (miR-106, miR-93, miR-25) [up]	TNM, tanı, prognoz	[210]
Gastrik Kanser Dokusu	Lin28B[up]	Prognoz	[278]
Plazma	miR-222	Lenf nodu metastazı, TNM evresi, serozal invazyon	[279]
FFPE ve taze frozen dokuları	miR-106a [up]		[280]
Gastrik Kanser Dokuları / Normal Gastrik Mukoza	miR-9, miR-433, miR-19b ve miR-370 [down]	Tanı	[281]
	miR-211, let-7b, and miR-708	Tanı	[282]
Gastrik Kanser Dokuları ve Gastrik Kanser Cell-line	ITGB1 -miR-29c	Tanısal ve terapötik biyobelirteç	[283]
Gastrik Kanser Dokusu	miR-92a [up]	Prognoz	[284]
Frozen Preperatı	miR-21, -103, -106a, -221 ve -222 [up] miR-143 ve -195 [down]	Tedavi ve tanısal biyobelirteç	[285]
Gastrik Kanser Dokuları, Gastrik Kanser Cell-line, Plazma	miR-18a	Gastrik kanser tarama, progresyon	[286]
Plazma	miR-122 [down] ve miR- 192 [up]	Metastaz	[173]
Gastrik Kanser Dokusu	hsa-miR-196 [up] ve hsa-miR-148a [down]	Tanı	[287]
Gastrik Kanser Cell-line	miR-135a	Terapötik ve prognoz	[288]
Gastrik Kanser Dokuları	miR-193b[down] miR-196a[up]	Prognoz	[289]
Gastrik Kanser Dokuları	miR-215/192[up]	Prognoz	[290]
Plazma	miR-21 [up]	Postoperatif plazmalarda bağımsız prognostik faktör	[291]
Gastrik Kanser Dokuları	miR-185 [down]	Klinik evre ve LNM	[292]
Gastrik Kanser Dokuları	miR-22 [down]	Prognoz	[293]
Gastrik Kanser Dokuları	miR-206[down]	Prognoz	[294]
Plazma	miR-196a-b [up]	Metastaz, klinik evre, kötü prognoz	[275]
Gastrik Kanser Dokuları	miR-10b, miR-21, miR-223, miR-338, let-7a, miR-30a-5p, miR-126	Sağkalım	[295]
Gastrik Kanser Dokuları	miR-212, miR-195 [down]	LNM	[296]
Plazma	miR-17, miR-106b [up]	Erken gastrik kanser tanısı ve prognoz	[271, 272]
Plazma	miR-378 [up]	Tanı	[268]
Plazma	miR-16, miR-25, miR-92a, miR-451 ve miR-486-5p [up]	Tanı	[270]
Plazma	miR-10b-5p, miR-132-3p, miR-185-5p, miR195-5p, miR-20a-3p ve miR-296-5p [up]	Tanı	[276]

Plazma	miR-200c [up]	Tanı ve LNM	[269]
Gastrik Kanser Dokuları	miR-383 [down]	Tanı	[263]
Mide Sıvısı	miR-421 [down]	Tanı	[297]
Mide Sıvısı	miR-129 [down]	Tanı	[298]
Mide Sıvısı	miR-21, miR-106a [down]	Tanı	[299]
Mide Sıvısı	miR-133a [down]	Tanı	[300]
Gastrik Kanser Dokuları	hsa-mir-135b [down]	Tanı	[301]
Plazma	miR-21, miR-331 [up]	Tanı	[302]
Plazma	miR-1207-5p [up]	LNM	[303]
Plazma	miR-19b-3p, miR-106a	Tanı	[304]
Peritoneal Sıvı	miR-21, miR-1225-5p	Serozal invazyon, peritoneal rekürrens	[305]
Plazma	miR-21, miR-17-5p, miR-106a ve miR-106b [up]	Tanı	[266]
Serum	miR-21 [up]	Tanı	[306]
Plazma	miR-21, miR-223 ve miR-106-b [up]	Tanı	[307]
Serum	miR-378 [up]	Tanı	[268]
Serum	miR-21, miR-106b [up]	<i>H. pylori</i> eradikasyonu sonrası erken gastrik kanser oluşumu için artmış risk tespiti	[308]
Plazma	miR-20a, miR-106b ve miR-221 [up]	Erken Gastrik Kanser Tanısı	[309]
Plazma	miR-192 [up]	Uzak Metastaz Göstergesi	[310]
Serum	miR-421 [up]	Tanı	[273]
Plazma	miR-627, miR-629 ve miR-652 [up]	Tanı	[311]
Plazma	miR-20a, miR-185, miR-210, miR-25, miR-92b [up]	Tanı	[150]
Serum	Eksozomal miRNA'lar: miR-10b-5p, miR-132-3p, miR-185-5p, miR-195-5p, miR-20a-3p, miR-296-5p [up]	Tanı	[276]
Plazma	Let-7a [down]	Tanı	[266]
Serum	miR-375 [down]	Tanı (Diffüz tip)	[312]
Plazma	miR-218 [down]	Uzak Metastaz Göstergesi	[307]
Plazma	miR-940 [down]	Tanı, Evreleme	[313]
Plazma	miR-21 [up]	Prognoz, TNM evresi, tümör boyutu	[314]
Serum	miR-20a, miR-1, miR-27a, miR-34a, miR-423-5p [up]	Prognoz, TNM evresi, progresyon evresi	[267]
Plazma	miR-20a, miR-17-5p [up]	Prognoz, Differensiasyon, TNM evresi, Kötü Sağkalım	[315]
Serum	miR-196a [up]	Prognoz, Tümör evresi, Nüks	[316]
Serum	miR-21, miR-146a, miR-148a [up]	Prognoz, LN metastazı	[317]
Plazma	miR-21 [up]	Prognoz, Vasküler invazyon	[291]
Serum	miR-21 [up]	Prognoz, Tümör evresi	[274]
Plazma	miR-214 [up]	Prognoz, Metastaz, Operasyon takibi	[318]
Plazma	miR-25 [up]	Prognoz, LN metastazı	[319]
Serum	miR-195-5p [down]	Prognoz	[320]
Serum	let-7a [down]	Prognoz, Progresyon evresi, LN metastazı, TNM evresi, İnvazyon, Tümör boyutu	[321]
Serum	miR-218 [down]	Prognoz, Metastaz, TNM evresi, Tümör evresi, Kötü Sağkalım	[322]
Serum	miR-203 [down]	Prognoz, Lenfatik ve Venöz invazyon, Peritoneal, Uzak, LN, Karaciğer metastazı TNM evresi, Kötü Sağkalım	[323]

Kan	miR-200c [up]	Tanı-Prognoz, LNM, Kötü Sağkalım	[269]
Serum	miR-200c [up]	Prognoz, Tümör grade, TNM evresi, Kötü Sağkalım	[324]
Serum	miR-221, miR-376c, miR-744 [up]	Tanı, Prognoz, Differansiyasyon, LNM, Kötü Sağkalım	[325]
Plazma	miR-199a-3p miR-151-5p [up]	Tanı, Prognoz	[326]
Plazma	miR-106b, miR-93, miR-25 [up]	Tanı, Prognoz, Tümör boyutu, TNM evresi	[210]
Plazma	miR-222 [up]	Tanı, Prognoz, Klinik Evre, LNM, Overall sağkalım	[279]
Plazma	miR-18a [up]	Tanı, Prognoz, Patolojik grade, Lenf nodu durumu, Kısa hastalısız sağkalım ve Hastalık spesifik sağkalım, Takip	[286, 327]
Serum	miR-223, miR-16 ve miR-100 [up]	Tanı, Prognoz, Diferansiyasyon, Metastaz, TNM evresi, Tümör boyutu	[328]
Plazma	miR-122 [down]	Tanı, Metastaz, Kötü Sağkalım, Prognoz	[310]
Plazma	miR-16-5p, miR-19b-3p	Tanı, Prognoz, Diferansiyasyon, TNM evresi	[329]
Plazma	miR-206	Tanı, Prognoz, LNM, Lokal İnvazyon, İlerlemiş klinik evre, Nüks	[330]
Serum	miR-200a-3p, miR-296-5p, miR-132-3p, miR-485-3p ve miR-22-5p	Tanı	[331]
Serum	miR-17-92 [up]	Tanı	[332]
Plazma	miR-217 [down]	Tanı	[333]
Serum	miR-501-3p, miR-143-3p, miR-451a, miR-146a	LNM	[334]
Plazma	miR-23b [up]	Prognoz	[335]
Gastrik Kanser Dokusu, Plazma, Serum	miR-20b, miR-141, miR-145 ve miR-486-5p	Prognoz	[336]
Gastrik Kanser Dokusu	miR-145, miR-184, miR-20b, miR-9-1, miR-9-2, miR-1537, miR-549 ve miR-802	Prognoz	[337]

Shekari et al. yaptıkları derlemede tanı için kullanılabilecek yüksek sensivite ve spesifiteye sahip dolaşımdaki miRNA'ları ve prognostik olarak kullanılabilecek dolaşımdaki miRNA'ları önerdiler (Tablo 5, 6) [8].

Tablo 5. Tanı ve prognostik kullanım amaçlı önerilerin miRNA'lar ve sensivite, spesifite değerleri [8]

miRNA	Spesifite	Sensivite
miR-16, miR-25, miR-92a, miR-451 ve miR-486-5p	%84,1	%90,8
miR -18a	%80,5	%84,6
miR-103, miR-107, miR-194 ve miR-210	miR-103: %81,8 miR-107: %90,9 miR-194: %90,9 miR-210: %72,7	miR-103: %95,7 miR-107: %95,7 miR-194: %95,7 miR-210: %87,0
miR-21, miR-223, miR-218 ve 106-b	%84,29	%92,86
miR-421	%95,5	%89,1
miR-375	%80	%85
miR-627, miR-629 ve miR-652	%86,7	%85,5

Tablo 6. Klinik olarak kullanımı önerilen dolaşımdaki miRNA'lar [8]

Klinikopatolojik Özellikler	Dolaşımdaki miRNA'lar	
Diferansiasyon	miR-17-5p, miR-20a, miR-221, miR-376c, miR-223, miR-100, miR-16-5p, miR-19-3p	
Metastaz	LNM	miR-146a, miR-148a, miR-25, miR-200c, miR-203, miR-199a-3p, miR222, miR-18a, miR-206, miR-21, let-7a, miR-218, miR-214, miR-27a, miR-122, miR-223, miR-16, miR-100
	Karaciğer Met.	miR-1
TNM Evresi	miR-21, miR-17-5p, miR-20a, let-7a, miR-218, miR-200c, miR-106b, miR-93, miR-25, miR-223, miR-100, miR-16, miR-16-5p, miR-19-3p, miR-203	
Tümör Boyutu	miR-21, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-16, miR-100, miR-223	
İnvazyon	miR-21, miR-203, let-7a, miR-199a-3p, miR-206	
Overall Sağkalım	miR-17-5p, miR-20a, miR-200c, miR-25, miR-27a, miR-18a, miR-203, miR-218, miR-222	

2.2.10. Çalışmamızda değerlendirilen mikroRNA'lar

2.2.10.1. miR-101-3p

Tablo 7. miR-101-3p miRBase Bilgileri

Accession number	MIMAT0000099
ID	hsa-miR-101-3p
Sequence	UACAGUACUGUGUAACUGAA

Tablo 8. miR-101-3p ile ilgili çalışmalar

Hepatosellüler Karsinom	miR-101	Downregülasyon		2009	[338]
Prostat Kanseri	miR-101	Downregülasyon		2010	[339]
Gastrik Kanser	miR-101	Downregülasyon	Migrasyon, İnvazyon	2010	[340]
Meme Kanseri	miR-101	Downregülasyon		2011	[341]
Nöroblastom	miR-101	Downregülasyon		2011	[342]
Gastrik Kanser	miR-101	Downregülasyon	Tümör Büyümesi	2012	[343]
Kolon Kanseri	miR-101	Downregülasyon		2013	[344]
Mesane Kanseri	miR-101	Downregülasyon		2013	[345]
Over kanseri	miR-101	Downregülasyon		2014	[346]
Serviks Kanseri	miR-101	Downregülasyon		2015	[347]
Akciğer Kanseri	miR-101	Downregülasyon		2015	[348]
Gastrik Kanser	miR-101	Upregülasyon	<i>H. pylori</i> ilişkili kanserlerde SOCS2 geni üzerine tumorigenesis inhibisyonu	2015	[349]
Gastrik Kanser	miR-101	Downregülasyon	Kemorezistans	2017	[350]
Gastrik Kanser Plazma	miR-101	Downregülasyon	Tümör Progresyonu	2017	[351]
Gastrik Kanser Doku	miR-101	Downregülasyon	Prognoz	2018	[352]
Meme Kanseri Dokuları	miR-101-3p	Med-19 ekspresyonunu baskılar	Proliferasyonu Baskılar	2019	[353]

2.2.10.2. miR-146a-5p**Tablo 9.** miR-146a-5p miRBase Bilgileri

Accession number	MIMAT0000449
ID	hsa-miR-146a-5p
Sequence	UGAGAACUGAAUCCAUGGGUU

Tablo 10. miR-146a-5p ile ilgili çalışmalar

Papiller Tiroid Kanseri	miR-146	Upregülasyon		2005	[354]
Papiller Tiroid Kanseri, Hepatosellüler Karsinom, Meme Kanseri, Over Kanseri, Prostat Kanseri	miR-146a	rs2910164 poliformizmi	Polimorfizime bağlı prognoz	2008, 2009, 2013, 2017	[355-360]
Gastrik Kanser Doku	miR-146a	Downregülasyon	LNM	2010	[361]
Gastrik Kanser Doku	miR-146a	Downregülasyon	LNM, Venöz İnvazyon, Prognoz	2011	[362]
Gastrik Kanser Doku-Hücre Kültürü	miR-146a	Downregülasyon	Tümör Progresyonu	2012	[363]
Gastrik Kanser Serum	miR-146a	Downregülasyon	Prognoz, LNM	2013	[317]
Gastrik Kanser Serum	miR-146a	Downregülasyon	LNM	2015	[364]
Gastrik Kanser Serum	miR-146a	Downregülasyon	Prognoz, LN metastazı	2017	[334]
Gastrik Kanser Doku	miR-146a-5p	Downregülasyon	Peritoneal Metastaz	2018	[365]
Gastrik Kanser Doku	miR-146a	Downregülasyon	HP (-) gastrik kanserlerde migrasyonu tetikler	2018	[366]

2.2.10.3. miR-148a-3p**Tablo 11.** miR-148a-3p miRBase Bilgileri

Accession number	MIMAT0000243
ID	hsa-miR-148a-3p
Sequence	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU

Tablo 12. miR-148a-3p ile ilgili çalışmalar

Gastrik Kanser Serum	miR-148a	Downregülasyon	LNM	2013	[317]
Gastrik Kanser Doku	hsa-miR-148a	Downregülasyon	Tanı	2014	[287]
Gastrik Kanser Serum	miR-148a-3p	Downregülasyon		2015	[367]
Gastrik Kanser Serum	miR-148a	Downregülasyon	Tümör boyutu, TNM evresi, LNM, Prognoz	2018	[368]

2.2.10.4. miR-200a-3p

Tablo 13. miR-200a-3p miRBase Bilgileri

Accession number	MIMAT0000682
ID	hsa-miR-200a-3p
Sequence	UAACACUGUCUGGUAACGAUGU

Tablo 14. miR-200a-3p ile ilgili çalışmalar

Gastrik Kanser Doku	miR-200 ailesi (miR-200a ve miR-200b)	EBV ilişkili gastrik kanserlerde downregülasyon		2010	[369]
Gastrik Kanser Serum	miR-200c	Artmış ekspresyon	Kötü Prognoz, Azalmış Sağkalım	2012	[370]
Gastrik ve Özefagus Kanseri Doku	miR-200a	Gastrik kanser dokusunda downregülasyon özefagus kanser dokusunda upregülasyon		2013	[371]
Gastrik Kanser Serum	miR-200c	Upregülasyon		2013	[372]
Gastrik Kanser Doku	miR-200a-3p	Upregülasyon	Erkek hastalarda daha anlamlı	2015	[373]
Özefagus kanseri	miR-200a-3p		Kanser hücrelerinin proliferasyonu	2016	[374]
Gastrik Kanser Serum	miR-200a-3p, miR-296-5p, miR-132-3p, miR-485-3p ve miR-22-5p	Upregülasyon	Tanı	2018	[331]

2.2.10.5. miR-21-5p

Tablo 15. miR-21-5p miRBase bilgileri

Accession number	MIMAT0000076
ID	hsa-miR-21-5p
Sequence	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA

Tablo 16. miR-21-5p ile ilgili çalışmalar

Hepatosellüler Kanser	miR-21		PTEN tumor supressor geninin kontrolü	2007	[375]
Gastrik Kanser Doku	miR-21	Upregülasyon	Sağkalım	2010	[295]
Gastrik Kanser Plazma	miR-21	Upregülasyon	Tanı	2010	[266]
Gastrik Kanser Serum	miR-21	Upregülasyon	<i>H. pylori</i> eradikasyonu sonrası erken gastrik kanser oluşumu için artmış risk tespiti	2013	[308]
Gastrik Kanser Plazma	miR-21	Upregülasyon	Prognoz, TNM evresi, tümör boyutu	2012	[314]
Gastrik Kanser	miR-21		PTEN tumor supressor geninin kontrolü	2012	[376]
Gastrik Kanser Serum	miR-21	Upregülasyon	Tanı	2012	[306]
Gastrik Kanser Doku	miR-21	miR-21, -103, -106a, -221 ve -222 [up] miR-143 ve -195 [down]	Tanı, Tedavi takibi	2013	[285]
Gastrik Kanser Plazma	miR-21	Upregülasyon	Postoperatif bağımsız prognostik faktör	2013	[377].
Gastrik Kanser Serum	miR-21	Upregülasyon	Prognoz, LNM	2013	[317]
Gastrik Kanser Gastrik Sıvı	miR-21	Downregülasyon	Tanı	2013	[299]
Gastrik Kanser	miR-21	Upregülasyon	Diferansiasyon, TNM	2014	[378]
Gastrik Kanser	hsa-miR-21	Upregülasyon	Tanı, Prognoz	2015	[379]
Peritoneal Sıvı	miR-21	miR-21, miR-1225-5p [up]	Serozal invazyon, peritoneal rekürrens	2015	[305]
Gastrik Kanser Plazma	miR-21	Upregülasyon	Tanı	2017	[302]

2.2.10.6. miR-106b-5p**Tablo 17.** miR-21-5p miRBase Bilgileri

Accession number	MIMAT0000076
ID	hsa-miR-21-5p
Sequence	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA

Tablo 18. miR-21-5p ile ilgili çalışmalar

Gastrik Kanser Doku	miR-106b	Upregölasyon		2009	[380]
Gastrik Kanser Plazma	miR-106a, miR-106b	Upregölasyon	Tanı	2010	[266]
Gastrik Kanser Serum	miR-106	Upregölasyon	H. pylori eradikasyonu sonrası erken gastrik kanser oluşumu için artmış risk tespiti	2013	[308]
Gastrik Kanser Plazma	miR-106b	Upregölasyon	Erken Gastrik Kanser Tanısı	2013	[309]
Gastrik Kanser	miR-106b	Upregölasyon	p21 ve E2F5'e etkisi	2013	[381]
Gastrik Kanser Plazma	miR-106b	Upregölasyon	Erken gastrik kanser tanısı ve prognoz	2014	[271]
Gastrik Kanser Doku	miR-106b		PTEN hedefleyerek hücre siklusunu tetikler	2014	[254]
Gastrik Kanser Doku ve Plazma	miR-106b~25	Upregölasyon	TNM, tanı, prognoz	2014	[210]
Gastrik Kanser Serum	miR-106a		Tanı, Prognoz	2016	[382]
Gastrik Kanser Plazma	miR-106b~25	Upregölasyon	Tanı	2017	[383]
Gastrik Kanser	miR-106b-5p	Upregölasyon	BRD4 ve E2F/miR-106b/p21 yolağı	2018	[384]

2.2.10.7. miR-203a-3p**Tablo 19.** miR-203a-3p miRBase Bilgileri

Accession number	MIMAT0000264
ID	hsa-miR-203a-3p
Sequence	GUGAAAUGUUUAGGACCACUAG

Tablo 20. miR-203a-3p ile ilgili çalışmalar

Gastrik Kanser Doku	miR-203	Downregülasyon	Downregülasyonu <i>H. pylori</i> enfeksiyonu ile tetiklenir	2014	[385]
Gastrik Kanser Doku	miR-203		İnvazyon ve metastazın inhibisyonu	2016	[386]
Gastrik Kanser Serum	miR-203	Downregülasyon	Tanı	2016	[387]
Gastrik Kanser Serum	miR-203	Downregülasyon	Prognoz, Lenfatik ve Venöz invazyon, Peritoneal, Uzak, LN, Karaciğer metastazı, TNM evresi, Kötü Sağkalım	2016	[323]
Gastrik Kanser Doku	miR-203	Downregülasyon	Klinik Evre, LNM, Tüm Sağkalım ve Hastalısız Sağkalım için bağımsız prognostik faktör	2017	[388]
Gastrik Kanser Doku	miR-203		ERK1/2/Slug/E-Cadherin yolacağını etkileyerek invazyonu engeller	2017	[389]
Gastrik Kanser Doku	miR-203a-3p		IGF-1R'i hedefleyerek tumor supresyonu	2018	[390]

2.2.10.8. miR-27a-3p**Tablo 21.** miR-27a-3p miRBase bilgileri

Accession number	MIMAT0000084
ID	hsa-miR-27a-3p
Sequence	UUCACAGUGGCUAAGUCCGC

Tablo 22. miR-27a-3p ile ilgili çalışmalar

Gastrik Kanser Doku	miR-27a, miR-27b	Upregülasyon	LNM	2009	[391]
Gastrik Kanser Serum	miR-27a	Upregülasyon	Prognoz, TNM evresi, progresyon evresi	2011	[267]
Gastrik Kanser Serum	miR-27a	Upregülasyon	LNM	2013	[317]
Gastrik Kanser Plazma	miR-27a	Upregülasyon	Tanı, Prognoz	2015	[392]
Gastrik Kanser	miR-27a-3p		BTG2'yi hedefleyerek onkogen gibi davranır	2016	[393]

2.2.10.9. miR-17-5p

Tablo 23. miR-17-5p miRBase Bilgileri

Accession number	MIMAT0000070
ID	hsa-miR-17-5p
Sequence	CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG

Tablo 24. miR-17-5p ile ilgili çalışmalar

Gastrik Kanser Plazma	miR-17-5p	Upregölasyon	Tanı, Erken gastrik kanser tanısı ve prognoz	2010	[266]
Gastrik Kanser Plazma	miR-17-5p/20a	Upregölasyon	Prognoz, Differensiasyon, TNM evresi, Kötü Sağkalım	2012	[315]
Gastrik Kanser Plazma	miR-17	Downregölasyon	Tanı	2014	[271]
Gastrik Kanser Doku	miR-17-5p	Downregölasyon	Hücre proliferasyonu (p21, TP53INP1 üzerinden)	2013	[243]
Gastrik Kanser	miR-17-5p		TGF- β receptor 2'yi hedefleyerek proliferasyon ve migrasyonu kontrol eder	2016	[394]
Gastrik Kanser Serum	miR-17-92 kümesi	Upregölasyon	Tanı	2017	[395]
Gastrik Kanser	miR-17-5p		Downregölasyonu ilaç rezistansını önler	2018	[396]
Gastrik Kanser	miR-17-92 kümesi		TRAF3 ve NF- κ B üzerinden onkogen olarak işlev görür	2018	[397]
Gastrik Kanser	miR-17		İnhibisyonu kemorezistansı önler	2018	[398]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı ve Aydınlatılmış Onam

Mevcut çalışma protokolü Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (Tarih:24.09.2018/Sayı:666) (Ek 1). Çalışmaya katılan tüm hastalara çalışma protokolü anlatıldı ve aydınlatılmış onam alındı ve girişimsel olmayan klinik araştırmalar için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatıldı (Ek 2, 3).

3.2. Çalışma Dizaynı

Bu çalışma prospektif dizaynda olgu kontrol çalışması olarak planlandı. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda histopatolojik olarak gastrik kanser tanısı konan ve Eylül 2015 ve Aralık 2018 tarihleri arasında kliniğimizde opere edilen hastalar dahil edildi. Ayrıca sağlıklı gönüllülerden oluşan bir kontrol grubu oluşturuldu. Gastrik kanserli hastaların ve kontrol grubunun serum miRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldı.

3.3. Dahil Edilme ve Dışlama Kriterleri

Histopatolojik olarak gastrik kanser tanısı konan ve bu nedenle Eylül 2015 ve Aralık 2018 tarihleri arasında gastrektomi ve D2 lenf nodu diseksiyonu uygulanan, 18 yaş üstü, *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) performans skoru 0, 1 veya 2 olan, uzak metastaz ve peritoneal yayılımı olmayan, neoadjuvan kemoradyoterapi almayan hastalar dahil edildi. Kontrol grubu hastanemizde görev yapan, malignite ve kronik hastalık öyküsü olmayan 18 yaş üstü sağlıklı bireylerden ve polikliniğimize nonspesifik semptomlar ile başvuran hastalardan gönüllük esasına dayanılarak oluşturuldu.

Uzak metastazı olan, peritoneal yayılımı olan, öyküsünde daha önce gastrik kanser öyküsü olan veya farklı bir kanser türü olan, 18 yaş altı, opere edilmeyen, ECOG 3, 4, 5 hastalar, D2 lenf nodu diseksiyonu uygulanmayan ve eksik verisi olan hastalar çalışmadan dışlandı.

3.4. Cerrahi Öncesi Değerlendirme ve Evreleme

Endoskopik ve histopatolojik tanı olarak gastrik adenokarsinom tanısı alan hastalar preoperatif olarak rutin görüntüleme yöntemleri ile değerlendirildi. TNM sınıflamasına göre Evre IV kabul edilen hastalar çalışmaya alınmadı. Uzak metastazı ve peritoneal yayılımı olmayan küratif gastrektomi ve D2 diseksiyonu planlanan hastalar çalışmaya dahil edildi. Dahil edilme kriterlerini karşılayan hastaların çalışma konusunda bilgilendirilmesi ve aydınlatılmış onam alınmasının ardından preoperatif dönemde anestezi hazırlığı amacıyla alınan kan örnekleri ile birlikte 2'şer tüp (toplam 18 cc) periferik venöz kan alındı.

3.5. Gastrektomi ve D2 Lenf Nodu Diseksiyonu

Tümörün histopatolojik diferansiasyonuna ve tümör lokalizasyonuna göre hastalara total gastrektomi, proksimal gastrektomi ya da distal gastrektomi ve D2 lenf nodu diseksiyonu ve uygun rekonstrüksiyon uygulandı. Preoperatif dönemde uzak metastaz ve peritoneal yayılım saptanmayan ancak cerrahi eksplorasyon sonrası uzak metastaz, peritoneal yayılım saptanan, palyatif cerrahi yapılan ve/veya sınırlı D1 lenf nodu diseksiyonu yapılan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çıkarılan spesmenler rutin inceleme için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalına teslim edildi. Histopatolojik incelemelerden sonra hastalar yapılan gastrektomi türü, tümör lokalizasyonu, tümör diferansiasyonu, patolojik TNM, tümör çapı, Lauren sınıflaması, Borrmann sınıflaması, anjiolenfatik invazyon, metastatik lenf nodu sayısı, toplam diseke edilen lenf nodu sayısı, c-erbB2, batin yıkama sitolojisine göre gruplandırıldı.

Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan 35 hasta ve 33 kontrol ile devam edildi.

3.6. Alınan Örneklerden Serum İzolasyonu ve Örneklerin Saklanması

Alınan örnekler maksimum 2 saat içerisinde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Biyokimya laboratuvarında 2000 rpm'de 10 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi. Ardından yaklaşık 1-1.3 mL serum steril eppendorf tüplerine

aktarıldı. 8000 rpm’de tekrar 5 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildikten sonra yeni bir steril eppendorf tüpüne serum transfer edildi. Serum örnekleri -80°C’de saklandı.

3.7. RNA İzolasyon Protokolü (Qiagen miRNeasy Serum/Plazma Advanced Protokolü (Cat. No:217204)

69 adet serum örneği çözündürüldü. Mikrosantrifüj tüpüne 200 ul örnek eklendi. Örnek üzerine 60 ul tampon RPL eklendi ve >5 sn. vorteks ile karıştırıldı, oda sıcaklığında 3 dakika bekletildi. Tüpe 3.5 ul spike-in kontrol eklendi (sulandırılan cel-mir-39) ve vorteks ile iyice karıştırıldı. Tüpe 20 ul tampon RPP ekleyin, tüpü >20 sn. vorteks ile iyice karıştırıldı ve oda sıcaklığında 3 dakika bekletildi. Tüp süre bitiminde 12.000 x g’de 3 dakika santrifüj edildi ve pellet çökmesi sağlandı. Süpernatant, yaklaşık 230 ul yeni bir tüpe alındı ve üzerine 1/1 hacimde isopropanol eklendi ve vorteks ile iyice karıştırıldı. Kolonlara, tüpün tüm içeriği aktarıldı ve ≥8.000 x g’de 15 saniye santrifüj edildi. Tüpteki süzüntü atıldı. Kolona 700 ul tampon RWT eklendi ve ≥8.000 x g’de 15 saniye santrifüj edildi. Tüpteki süzüntü atıldı. Kolona 500 ul tampon RPE eklendi ve ≥8.000 x g’de 15 saniye santrifüj edildi. Tüpteki süzüntü atıldı. Kolona 500 ul %80’lik alkol eklendi ≥8.000 x g’de (≥10.000 rpm) 2 dakika santrifüj edildi. Tüpteki süzüntü atıldı. Kolon yeni bir 2 ml’lik toplama tüpüne alındı, tüpü ağzı açık şekilde 5 dakika maksimum hızda santrifüj edildi. Kolon yeni bir 1,5 ml tüp içerisine alındı, membranın tam ortasına gelecek şekilde 20 ul RNase free sudan pipetlendi, tüp kapağı açık halde 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Süre bitiminde, tüp maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi ve RNA membrandan süzüldü.

3.8. cDNA Reaksiyonun Hazırlanması (Qiagen miScript II Kit, Cat. No:218161)

69 RNA örneği ve 1 pozitif kontrol için 5x miScript Hispec Buffer 112 ul, 10x miScript Nucleics Mix 56 ul, DNase-RNase free su 56 ul, miScript Rev. Transcriptase Mix 56 ul olmak üzere toplam 280 ul karışım hazırlandı. Karışım 8’li strip tüpün 6 kuyusuna 46 ul olarak dağıtıldı. Hazırlanan cDNA karışımı 3.5 uL olarak RNA örnekleri üzerine dağıtıldı. Piko plate, plate karıştırıcıda 2000 rpm’de 3 dakika karıştırıldı. Vorteks üzerinde 2 saniye karıştırıldı, 4-5 saniye beklendi, tekrar karıştırıldı. Plate santrifüjünde 60 saniyeye santrifüj edildi. 37 °C’de 60 dakika,

95°C'de 5 dakika, 4 °C'de ω olmak üzere termal programa alındı (Genepro, China). Termal programın sonunda plate, plate karıştırıcıda 60 saniye santrifüj edildi. Protokol sonunda cDNA örnekleri 1/5 oranında Nuclease-free su (Qiagen, Germany) ile sulandırıldı.

3.9. Preamplifikasyon Reaksiyonunun Hazırlanması (Qiagen miScript Microfluidics PreAMP Kit, Cat No: 331455)

Tüpteki primerler (Qiagen, miScript Primer Assay, Cat. No: 331221) primer tüpü 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek, tüpe 27.5 ul Nuclease-free su (Qiagen, Germany) pipetlenerek, tüp kısa aralıklarla vortekslenerek ve spin down yapılarak 100 uM konantrasyona getirildi.

PreAmp Primer Pool hazırlanması: Çalışmadaki primerler ile Ctrl_miRTC ve cel-miR-39 ile beraber toplamda 11 primer çalışıldı. Her primerden bir tüpe 1 ul alınarak toplam hacim 11 ul'ye tamamlandı. Primerlere hacmin 500 ul'ye tamamlanması amacıyla 489 ul Nuclease-free su (Qiagen, Germany) eklendi. Tüp vorteksle iyice karıştırılarak preamp primer pool olarak preamp mikse eklendi. 160 ul 5x miScript Preamp Buffer, 64 ul Hot Start taq DNA ploy (2 U/ul), 160 ul Preamp primer pool, 224 ul DNase-RNase free su, 32 ul miScript Preamp Univ. Primer toplam 640 ul olmak üzere 69 örnek ve 1 pozitif kontrol için hazırlandı. Karışım 8li strip tüğünün 6 kuyusuna 106 ul olarak sağıtıldı. Piko plate sulandırılan cDNA örneklerinde 2 ul dağıtıldı. cDNA'lar üzerine hazırlana preamp karışımı 8 ul olarak dağıtıldı. Piko plate, plate karıştırıcıda 2000 rpm'de 3 dakika karıştırıldı. Vorteks üzerinde 2 saniye karıştırıldı. 4-5 saniye beklendi, tekrar karıştırıldı. Plate santrifüjünde 60 saniye santrifüj edildi ve 15 dakika 95 °C, 12 döngülük 30 saniye 94 °C, 3 dakika 60°C, ω 4 °C olmak üzere termal programa alındı (Genepro, China). Termal program sonunda plate, plate karıştırıcıda 60 saniye santrifüj edildi.

Ekzonükleaz adımı: Preamp örneklerinin üzerine Side Reducer (Qiagen miScript Microfluidics PreAmp Kit, Cat. No:331455) 1 ul olarak pipetlendi. Piko plate, plate karıştırıcıda 2.000 rpm'de 3 dakika karıştırıldı. Vorteks üzerinde 2 saniye karıştırıldı, 4-5 saniye beklendi bir kez daha karıştırıldı. Plate santrifüjünde 60 saniye santrifüj edildikten sonra 15 dakika 37°C, 5 dakika 95 °C, ω 4 °C olmak üzere termal

programa alındı (Genepro, China). Termal program sonunda plate, plate karıştırıcıda 60 saniye santrifüj edildi. Protokol sonunda preamp örnekleri Nuclease-free su (Qiagen, Germany) ile 1/5 oranında sulandırıldı.

3.10. RT-PCR Mix ve Primer Hazırlanması: (Qiagen, miScript Microfluidic PCR kit, Cat. No: 331431)

100 uM konsantrasyondaki primerler; 2.5 ul 100 uM primer, 3.75 ul Nuclease-free su (Qiagen, Germany), 6.25 ul Microfluidic Universal Primer (Qiagen, miScript Microfluidic PCR kit, Cat. No: 331431), 12.5 ul 2x Assay Loading Reagent (Fluidigm, Cat. No: 100-7611) toplam hacim 25 ul olacak şekilde; pozitif PCR kontrol (PPC) ise 6.25 ul PPC, 6.25 ul Microfluidic Universal Primer, 12.5 ul 2x Assay Loading Reagent (Fluidigm, Cat. No: 85000736) toplam hacim 25 ul olacak şekilde hazırlandı. RT-PCR karışımı 69 örnek + 1 pozitif kontrol için 255 ul qPCR Master Mix, 25.5 20x DNA Binding Dye (Fluidigm, Cat. No: 100-7609), 59.5 ul Nuclease-free su (Qiagen, Germany) ile toplam 340 ul olacak şekilde hazırlandı. Karışım 8'li strip tüpün ilk 6 kuyusuna 56 ul dağıtıldı. Temiz bir piko plate alınarak, preamplifiye örneklerden 2 ul dağıtıldı. Örnekler üzerine 4 ul hazırlanan PCR karışımı dağıtıldı. Piko plate, plate karıştırıcıda 2.000 rpm'de 3 dakika karıştırıldı. Vorteks üzerinde 2 saniye karıştırıldı, 4-5 saniye beklendi bir kez daha karıştırıldı. Plate santrifüjünde 60 saniye santrifüj edildi. Hazırlanan primer ve PCR karışımı Flexsich Chip kuyularına 3.75 ul olarak pipetlendi. Hazırlanan örnekler Real-time PCR (Biomark, Fluidigm, South San Francisco, CA) cihazına yüklendi. Biomark Termal Protokolü; 50°C 120 sn; 70°C 1800 sn, 25°C 600 sn (Thermal Mix), 95°C 600 sn (Hot Start), 35 döngü olacak şekilde 94°C 15 sn, 55°C 30 sn, 35 döngü, 70°C 30 sn ve Melting Curve olarak 60-95°C ayarlandı.

3.11. İstatiksel Analiz

Tüm veriler IBM SPSS Statistics v.22.0 programına girilerek analiz edildi. Biomark cihazından alınan ham veriler kontrol grubuyla kıyaslanmak üzere “miScript miRNA PCR Array Data Analysis” yazılımına yüklendi. “Global Mean Normalization” kullanılarak değerler standardize edildi [399]. Yazılım üzerinden hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırıldığı veriler kullanıldı. Elde edilen Ct değerleri kullanılarak gruplara ait ΔCt ve $2^{-\Delta Ct}$ değerleri IBM SPSS Statistics v.22 programı ile formülize

edilerek hesaplandı. Demografik nitel değişkenler sayı ve yüzde şeklinde sunuldu ve iki grup karşılaştırması ki-kare testi ile değerlendirildi. Nicel değişkenler ortalama, standart sapma, ortanca (min-max değerleri) olarak verildi. Görsel ve işlemsel normal dağılıma uygunluk analizine göre nonparametrik testler kullanıldı. İki grup karşılaştırmasında Mann-whitney-U testi kullanıldı. $2^{-\Delta Ct}$ yöntemi ile belirlenen serum miRNA ekspresyon düzeyleri ile prognostik faktörler arasındaki ilişki ROC analizi yapılarak değerlendirildi. Roc analizinde primer end point olarak değerlendirilen değişken; dikotom değişken şeklinde alındı ve ROC analizi sonucunda eğri altında kalan alan (AUC), sensitivite ve spesifite hesaplandı. Tip-I hatanın hesaplanmış şekli olan p değeri <0.05 iken anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmada 35'i hasta 33'ü kontrol grubu olmak üzere toplam 68 olgunun serum miRNA ekspresyon düzeyleri değerlendirildi. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet, sigara kullanımı, aile hikayesi ve kan grupları açısından anlamlı fark saptanmazken yaş açısından anlamlı fark saptandı (Tablo 25).

4.1. Olguların Demografik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Tablo 25. Olguların demografik ve klinik özelliklerinin değerlendirilmesi

	Hasta Grubu (n=35)	Kontrol Grubu (n=33)	p
Yaş (yıl)	51 ± 9,43 (39-76)	65 ± 12,18 (37-89)	0,001
Cinsiyet			0,150
Erkek	22 (%62,9)	15 (%45,5)	
Kadın	13 (%37,1)	18 (%54,5)	
Sigara Kullanımı	18 (51,4)	13 (%39,4)	0,319
Aile Hikayesi	5 (%14,3)	1 (%3,0)	0,102
Ek Hastalık	19 (%54,3)	13 (%39,4)	0,219
Kan Grubu			0,525
O Rh(-)	3 (%8,6)	2 (%6,1)	
O Rh(+)	10 (%28,6)	5 (%15,2)	
A Rh(-)	4 (%11,4)	4 (%12,1)	
A Rh(+)	13 (37,1)	11 (%33,3)	
B Rh(-)	0	0	
B Rh(+)	2 (%5,7)	4 (%12,1)	
AB Rh(-)	0	2 (%6,1)	
AB Rh(+)	3 (% 8,6)	5 (%15,2)	
Preoperatif;			
CEA (ng/mL)	2,29 ± 31,45 (n:30)	1,20 ± 0,74 (n:7)	0,427
CA 19-9 (U/mL)	11,15 ± 176,11 (n:28)	16,80 ± 37,5 (n:7)	0,549
CA 72-4 (U/mL)	1,72 ± 80,26 (n:27)	1,21 ± 0,86 (n:5)	0,631

4.2. Olguların Patolojik Özelliklerinin ve Uzun Dönem Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Gastrektomi ve D2 lenf nodu diseksiyonu yapılan 35 hastanın patolojik özellikleri Tablo 26’de verilmiştir.

Tablo 26. Olguların Patolojik Özellikleri

Tümör Boyutu	4,00 ± 2,16 (0,90-10,00)
Tümör Lokalizasyonu <i>Kardiyak</i> <i>Nonkardiyak</i>	5 (%14,3) 30 (%85,7)
Gastrektomi Türü <i>Total Gastrektomi</i> <i>Proksimal Gastrektomi</i> <i>Distal Gastrektomi</i>	23 (%65,7) 2 (%5,7) 10 (%28,6)
Diferansiasyon Türü <i>Az Derece Diferansiye</i> <i>İyi Derece Diferansiye</i>	19 (%54,3) 16 (%45,7)
Lauren Sınıflaması <i>İntestinal tip</i> <i>Diffüz Tip</i>	26 (%74,3) 9 (%25,7)
Borrmann Sınıflaması <i>Tip 1-2</i> <i>Tip 3-4</i>	7 (%20) 28 (%80)
Çıkarılan Lenf Nodu Sayısı	41 ± 19,83 (13-88)
Metastatik Lenf Nodu Sayısı	5 ± 8,71 (0-40)
pT <i>pT1</i> <i>PT2</i> <i>pT3</i> <i>pT4</i>	7 (%20,0) 1 (%2,9) 12 (%34,3) 15 (%42,9)
pN <i>pN0</i> <i>pN1</i> <i>pN2</i> <i>pN3</i>	9 (%25,7) 7 (%20,0) 2 (%5,7) 17 (%48,6)
Anijolenfatik İnvazyon	28 (%80,0)
Peritoneal Sitoloji	2 (%5,7)
Evreleme <i>Evre I-II</i> <i>Evre III</i>	17 (%48,6) 18 (%51,4)

Hastaların uzun dönem sonuçları Tablo 27’de verilmiştir.

Tablo 27. Hastaların Uzun Dönem Sonuçları

Sağkalım Süresi	15 ± 11,4 ay
Exitus	12 (%34,3)

4.3. Grupların Serum miRNA Ct, ΔCt, 2^{-ΔCt} değerleri

Tablo 28. Grupların Ortalama Ct, , ΔCt, 2^{-ΔCt} Değerleri

	Ortalama Ct		Ortalama ΔCt		2 ^{-ΔCt}	
	Kontrol Grubu	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	Hasta Grubu
miR-17-5p	21,7±1,19	21,21±1,39	3,42±1,23	2,16±1,69	0,09333	0,223314
miR-21-5p	15,79±2,60	14,63±1,63	-2,48±1,25	-4,42±1,25	5,58601	21,334891
miR-27a-3p	21,18±1,49	20,72±1,86	2,91±1,21	1,67±1,69	0,132935	0,313445
miR-101-3p	22,39±0,94	22,28±1,17	4,12±1,93	3,23±1,80	0,057584	0,106896
miR-106b-5p	21,48±1,29	20,47±1,54	3,2±1,18	1,42±1,68	0,108477	0,373416
miR-146a-5p	20,5±2,07	20,25±1,85	2,23±1,35	1,2±1,60	0,213786	0,435361
miR-148a-3p	20,93±1,73	21,06±1,85	2,66±1,1	2,01±1,48	0,15822	0,248224
miR-200a-3p	22,95±0,26	22,79±0,65	4,68±1,72	3,74±1,34	0,039035	0,074694
miR-203a-3p	22,79±0,46	22,26±1,24	4,52±1,7	3,21±1,69	0,043687	0,10826

4.4. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açıdan Değerlendirilmesi

Gastrik kanserli hastaların ve kontrol grubu karşılaştırıldığında hasta grubunda çalışılan tüm miRNA'ların serum ekspresyon düzeylerinin arttığı görüldü. İki grup arasında miR-101-3p ve miR-200a-3p ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-146a-5p, miR-148-3p ve miR-203a-3p'nin serum ekspresyon düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görüldü. miR-106b-5p'nin ise ekspresyon düzeyinin hasta grubunda kontrol grubuna göre 3,44 kat artmasında rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 29).

Tablo 29. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması

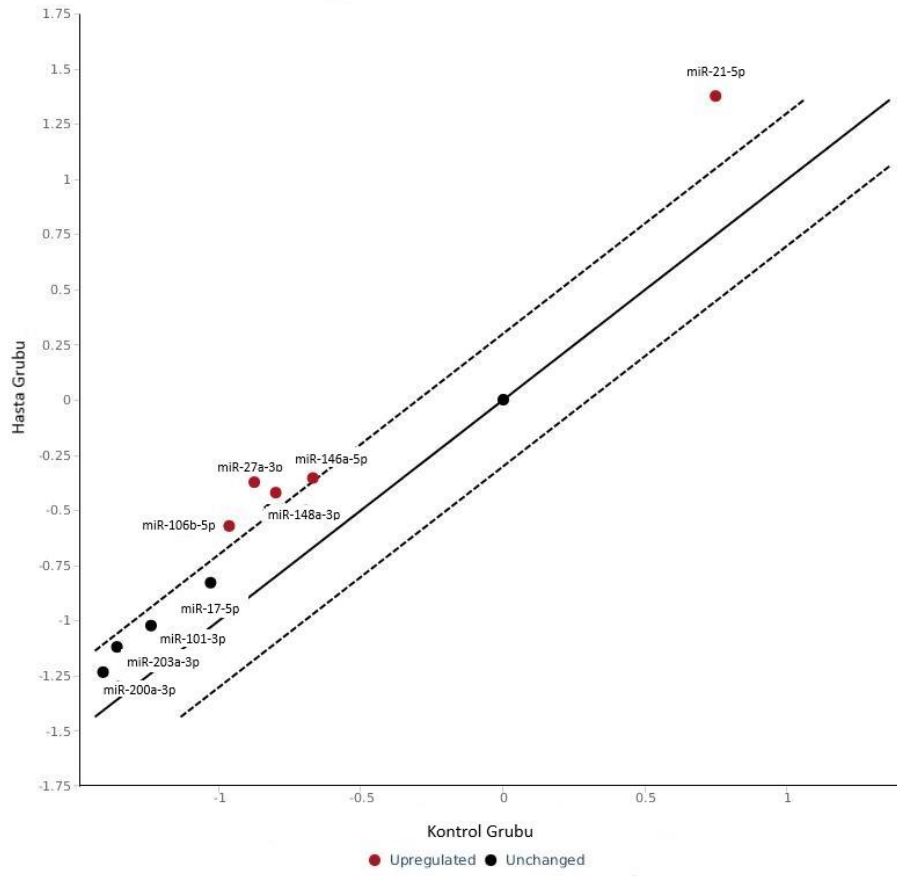
	Fold Change	95% CI	P
miR-17-5p	2,3927	(1.23, 3.55)	0,030529
miR-21-5p	3,8193	(2.24, 5.40)	0,000004
miR-27a-3p	2,3579	(1.22, 3.50)	0,010991
miR-101-3p	1,8563	(0.71, 3.00)	0,439338
miR-106b-5p	3,4424	(1.80, 5.08)	0,073353
miR-146a-5p	2,0364	(1.04, 3.03)	0,039812
miR-148a-3p	1,5689	(0.90, 2.24)	0,018749
miR-200a-3p	1,9135	(0.93, 2.89)	0,467539
miR-203a-3p	2,4781	(1.09, 3.86)	0,040908

4.5. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Erken Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açidan Değerlendirilmesi

Erken gastrik kanserli hastalar ile kontrol grubunun serum miRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında çalışılan tüm miRNA'ların hasta grubunda arttığı görüldü. İki grup arasında miR-17-5p, miR-101-3p, miR-200a-3p ve miR-203a-3p'nin serum ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-146a-5p, miR-106b-5p ve miR-148-3p'nin serum ekspresyon düzeylerinin erken gastrik kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görüldü (Tablo 30).

Tablo 30. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Erken Gastrik Kanserli Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması

	Fold Change	95% CI	P
miR-17-5p	1,5896	(0.00001, 3.22)	0,162256
miR-21-5p	4,2479	(0.73, 7.76)	0,000024
miR-27a-3p	3,1817	(1.21, 5.16)	0,002293
miR-101-3p	1,6467	(0.00001, 3.31)	0,862739
miR-106b-5p	2,4676	(0.71, 4.23)	0,049694
miR-146a-5p	2,0665	(0.00001, 4.28)	0,010122
miR-148a-3p	2,3973	(0.11, 4.68)	0,001392
miR-200a-3p	1,4924	(0.39, 2.60)	0,779149
miR-203a-3p	1,7371	(0.04, 3.44)	0,485143



Grafik 4. Erken Gastrik Kanserli Hastalarda Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Kontrol Grubuna Göre Fold Change Oranlarının Grafiksel Dağılımı

4.6. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Kardiya Yerleşimli Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açısından Değerlendirilmesi

Kardiyak gastrik kanserli hastalar ile kontrol grubunun serum miRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında çalışılan tüm miRNA'ların hasta grubunda arttığı görüldü. İki grubun miR-101-3p serum ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-106b-5p, miR-146a-5p, miR-148-3p ve miR-203a-3p'nin serum ekspresyon düzeylerinin kardiyak gastrik kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görüldü. miR-200a-3p'nin serum ekspresyon düzeylerinin ise kardiyak gastrik kanserli hasta

grubunda kontrol grubuna göre 2,67 kat artmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 31).

Tablo 31. **Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Kardiyak Gastrik Kanserli Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması**

	Fold Change	95% CI	p
miR-17-5p	4,4123	(0.00001, 9.05)	0,001578
miR-21-5p	10,1133	(5.25, 14.98)	0,001
miR-27a-3p	5,7327	(2.74, 8.73)	0,000011
miR-101-3p	1,7197	(0.00001, 3.98)	0,861978
miR-106b-5p	9,0164	(2.16, 15.87)	0,001
miR-146a-5p	8,0655	(0.73, 15.40)	0,00008
miR-148a-3p	3,3543	(1.49, 5.21)	0,000117
miR-200a-3p	2,6705	(0.00001, 5.69)	0,235093
miR-203a-3p	3,7755	(0.00001, 8.84)	0,02013

4.7. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Nonkardiyak Yerleşimli Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açından Değerlendirilmesi

Nonkardiyak gastrik kanserli hastalar ile kontrol grubunun serum miRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında çalışılan tüm miRNA'ların hasta grubunda arttığı görüldü. İki grubun miR-101-3p, miR-146a-5p, miR-148a-3p ve miR-200a-3p serum ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı. miR-21-5p ve miR-27a-3p'nin serum ekspresyon düzeylerinin nonkardiyak gastrik kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı olduğu görüldü. miR-17-5p'nin kontrol grubuna göre 2,16 kat; miR-106b-5p'nin 2,93 kat ve miR-203a-3p'nin 2,31 kat artışına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 32).

Tablo 32. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Nonkardiyak Gastrik Kanserli Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması

	Fold Change	95% CI	p
miR-17-5p	2,1607	(1.06, 3.26)	0,058261
miR-21-5p	3,2472	(1.90, 4.60)	0,000021
miR-27a-3p	2,0334	(0.99, 3.08)	0,029181
miR-101-3p	1,8802	(0.68, 3.08)	0,414892
miR-106b-5p	2,932	(1.48, 4.39)	0,121199
miR-146a-5p	1,619	(0.86, 2.38)	0,084987
miR-148a-3p	1,3822	(0.75, 2.01)	0,055948
miR-200a-3p	1,8101	(0.87, 2.75)	0,689847
miR-203a-3p	2,3102	(0.99, 3.63)	0,069086

4.8. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Diffüz Tip Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açidan Değerlendirilmesi

Diffüz tip gastrik kanserli hastalar ile kontrol grubunun serum miRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında çalışılan tüm miRNA'ların hasta grubunda arttığı görüldü. İki grup arasında miR-101-3p, miR-146a-5p, miR-148a-3p ve miR-200a-3p'nin serum ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-106b-5p ve miR-203a-3p serum ekspresyon düzeylerinin diffüz tip gastrik kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görüldü (Tablo 33).

Tablo 33. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Diffüz Tip Gastrik Kanserli Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması

	Fold Change	95% CI	p
miR-17-5p	2,4573	(0.19, 4.72)	0,004489
miR-21-5p	3,0865	(1.22, 4.96)	0,000007
miR-27a-3p	2,5572	(0.44, 4.67)	0,002616
miR-101-3p	1,6681	(0.04, 3.30)	0,924114
miR-106b-5p	2,9853	(1.11, 4.86)	0,006067
miR-146a-5p	1,2418	(0.55, 1.93)	0,977869
miR-148a-3p	1,0497	(0.35, 1.75)	0,576205
miR-200a-3p	1,8822	(0.24, 3.52)	0,509579
miR-203a-3p	2,9508	(0.09, 5.81)	0,03741

4.9. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin İntestinal Tip Gastrik Kanserli Hastalarda Tanısal Açıdan Değerlendirilmesi

İntestinal tip gastrik kanserli hastalar ile kontrol grubunun serum miRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında çalışılan tüm miRNA'ların hasta grubunda arttığı görüldü. İki grup arasında miR-101-3p ve miR-200a-3p ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p, miR-146a-5p ve miR-148a-3p'nin serum ekspresyon düzeylerinin intestinal tip gastrik kanserli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görüldü. miR-106b-5p ve miR-203a-3p'nin serum ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre 3,61 ve 2,33 kat artmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 34).

Tablo 34. Serum miRNA Ekspresyon Düzeylerinin İntestinal Tip Gastrik Kanserli Hasta ve Kontrol Grupları arasında karşılaştırılması

	Fold Change	95% CI	p
miR-17-5p	2,3708	(1.12, 3.62)	0,040644
miR-21-5p	4,1117	(2.25, 5.97)	0,000004
miR-27a-3p	2,2926	(1.05, 3.53)	0,018567
miR-101-3p	1,9264	(0.65, 3.20)	0,360383
miR-106b-5p	3,6164	(1.59, 5.65)	0,057925
miR-146a-5p	2,4167	(1.07, 3.76)	0,015808
miR-148a-3p	1,803	(0.94, 2.66)	0,007007
miR-200a-3p	1,9245	(0.92, 2.93)	0,581527
miR-203a-3p	2,3328	(0.95, 3.71)	0,090641

4.10. Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

$2^{-\Delta Ct}$ yöntemi ile belirlenen serum miRNA ekspresyon düzeyleri ile prognostik faktörler arasındaki ilişki ROC analizi yapılarak değerlendirildi. miR-27a-3p ekspresyon düzeylerinin tümörün T evresi, CA 19-9 yüksekliği, CA 72-4 yüksekliği ile ilişkili olduğu görüldü. miR-106b-5p ve miR-146a-5p ekspresyon düzeylerinin tümör lokalizasyonu ile ilişkili olduğu görüldü. miR-148-5p ekspresyon düzeylerinin ise tümörün T evresi ile ilişkili olduğu görüldü. Serum miRNA ekspresyon düzeyleri ile lenf nodu metastazı (LNM(+) vs LNM(-)), diferansiasyon, tümör lokalizasyonu (kardiyak vs nonkardiyak), T evresi (T1-2 vs T3-4), tümör boyutu

(≤ 4 cm vs > 4 cm), Lauren sınıflaması (İntestinal Tip vs Diffüz Tip), Borrmann Sınıflaması (Bormann 1-2 vs Bormann 3-4), anjiolenfatik invazyon (ALİ(+)) vs ALİ(-)), evre (evre 1-2 vs evre 3), c-erb-B2, CEA yüksekliği (< 3 ng/mL vs ≥ 3 ng/mL), CA 19-9 yüksekliği (< 40 U/mL vs ≥ 40 U/mL) ve CA 72-4 yüksekliği (< 10 U/mL vs ≥ 10 U/mL) arasındaki ROC analizlerinden elde edilen eğriler Grafik 5, 6, 7 ve 8’de, eğri altında kalan alan (AUC), sensivite, spesifite, cut-off ve p değerleri Tablo 35, 36, 37 ve 38’de verilmiştir.

Tablo 35. Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$) ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi - 1

	LNM		Diferansiasyon		Lokalizasyon		T evresi		Tümör Boyutu	
	AUC	p	AUC	p	AUC	p	AUC	p	AUC	p
miR-17-5p	0,397	0,365	0,563	0,527	0,600	0,480	0,616	0,326	0,460	0,689
miR-21-5p	0,415	0,450	0,430	0,484	0,700	0,157	0,625	0,289	0,425	0,453
miR-27a-3p	0,494	0,955	0,523	0,816	0,640	0,322	0,748	0,036	0,560	0,549
miR-101-3p	0,476	0,836	0,550	0,617	0,543	0,759	0,600	0,398	0,587	0,386
miR-106b-5p	0,385	0,308	0,537	0,714	0,773	0,049	0,514	0,906	0,453	0,641
miR-146a-5p	0,532	0,777	0,553	0,594	0,797	0,036	0,662	0,169	0,563	0,527
miR-148a-3p	0,412	0,439	0,375	0,211	0,610	0,437	0,729	0,049	0,397	0,301

Tablo 36. Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$) ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi - 2

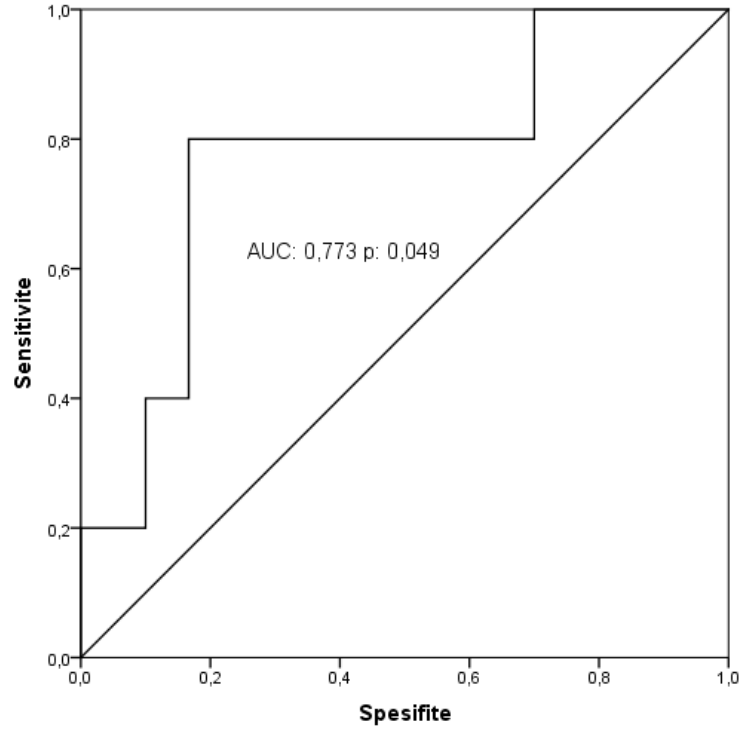
	Lauren Sınıflaması		Borrmann Sınıflaması		Anjiolenfatik İnvazyon		Evre		c-erb-B2	
	AUC	p	AUC	p	AUC	p	AUC	p	AUC	p
miR-17-5p	0,517	0,880	0,352	0,232	0,510	0,934	0,598	0,322	0,470	0,867
miR-21-5p	0,635	0,234	0,342	0,201	0,520	0,869	0,618	0,235	0,545	0,802
miR-27a-3p	0,524	0,836	0,474	0,837	0,518	0,885	0,621	0,222	0,682	0,316
miR-101-3p	0,571	0,533	0,286	0,083	0,584	0,496	0,578	0,428	0,477	0,900
miR-106b-5p	0,603	0,365	0,408	0,458	0,469	0,805	0,637	0,166	0,515	0,933
miR-146a-5p	0,613	0,317	0,431	0,578	0,589	0,470	0,492	0,934	0,530	0,867
miR-148a-3p	0,686	0,101	0,574	0,550	0,472	0,821	0,658	0,109	0,758	0,155

Tablo 37. Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$) ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi - 3

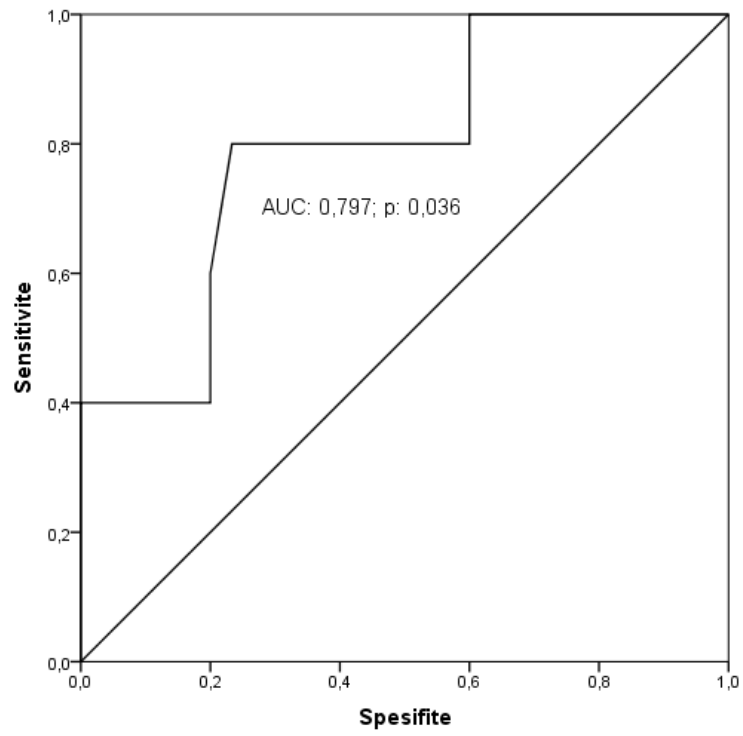
	CEA +		Ca 19-9 +		Ca 72-4 +	
	AUC	p	AUC	p	AUC	p
miR-17-5p	0,367	0,217	0,409	0,502	0,418	0,609
miR-21-5p	0,357	0,187	0,481	0,889	0,603	0,517
miR-27a-3p	0,317	0,090	0,795	0,029	0,859	0,024
miR-101-3p	0,114	0,786	0,697	0,145	0,620	0,453
miR-106b-5p	0,281	0,042	0,515	0,911	0,553	0,838
miR-146a-5p	0,473	0,802	0,716	0,111	0,538	0,811
miR-148a-3p	0,412	0,414	0,697	0,145	0,728	0,152

Tablo 38. Serum miRNA Ekspresyon Düzeyleri ($2^{-\Delta Ct}$) ile Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi - 4

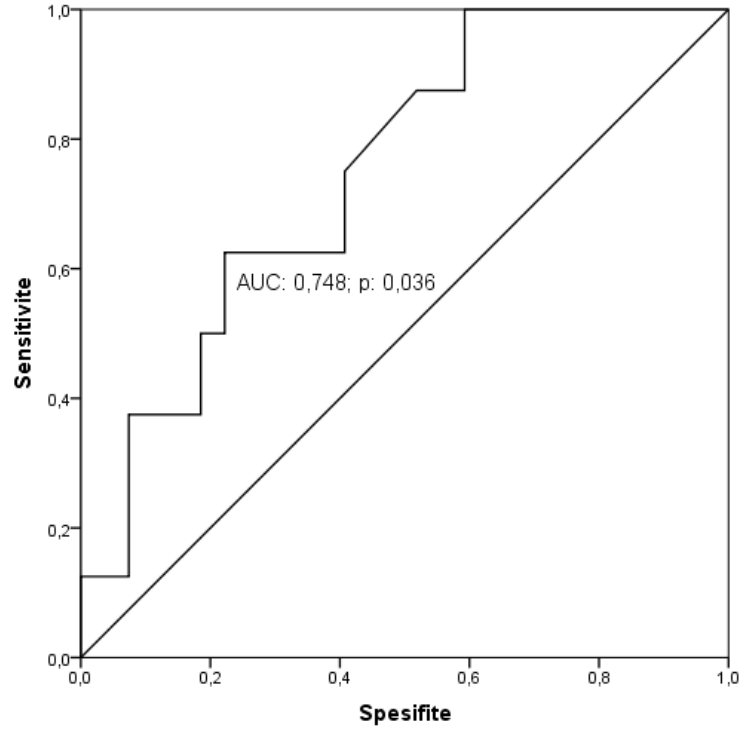
	AUC	Sensivite (%)	Spesifite (%)	Cut-off	p
miR-106b-5p vs Lokalizasyon	0,773	80	74	3,7	0,049
miR-146a-5p vs Lokalizasyon	0,797	80	77	1,61	0,036
miR-27a-3p vs T Evresi	0,748	70	60	1,2	0,036
miR-148a-5p vs T Evresi	0,729	75	71	1	0,049
miR-27a-3p vs CA 19-9 +	0,795	90	66,7	0,36	0,029
miR-27a-3p vs CA 72-4 +	0,859	91,3	75	0,34	0,024



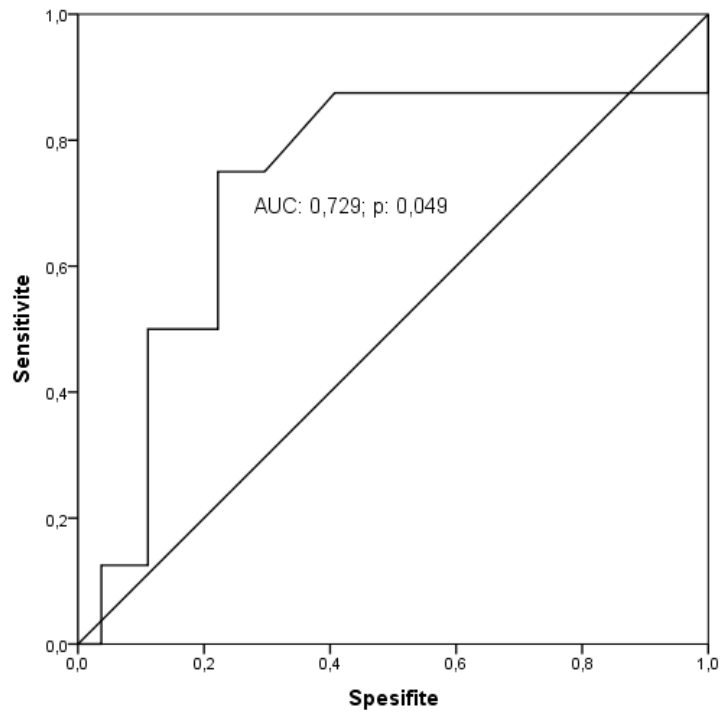
Grafik 5. miR-106b-5p Serum Ekspresyon Düzeyi ile Tümör Lokalizasyonu Arasındaki İlişkinin ROC Analizi



Grafik 6. miR-146a-5p Serum Ekspresyon Düzeyi ile Tümör Lokalizasyonu Arasındaki İlişkinin ROC Analizi



Grafik 7. miR-27a-3p Serum Ekspresyon Düzeyi ile Tümörün T Evresi Arasındaki İlişkinin ROC Analizi



Grafik 8. miR-148a-5p Serum Ekspresyon Düzeyi ile Tümörün T Evresi Arasındaki İlişkinin ROC Analizi

5. TARTIŞMA

Gastrik kanserler Dünyada en sık tanı konulan beşinci kanser olmakla birlikte kanser ilişkili ölümlerde üçüncü sıradadır. Ancak mevcut noninvaziv serolojik biyobelirteçlerin tanı ve prognoz belirlemedeki düşük sensitivite ve spesifiteleri nedeniyle bu konuda faydalı biyobelirteçlere hala ihtiyaç duyulmaktadır. Progresyon ve tümör evresinin gastrik kanserli hastalarda sağkalımı etkilediği göz önüne alındığı gastrik kanserlerin erken tanısının ve takibinin önemi anlaşılmaktadır [1, 2].

mirRNA'ların kanser biyogenezi, progresyon, migrasyon gibi hücre siklusundaki işlevleri ile ilgili kanıtlar sunuldukça tanı ve prognoz için de biyobelirteç olarak kullanılabilecekleri gündeme gelmiştir [11-13]. Devam eden çalışmalarda bazı miRNA türlerinin serum ekspresyon düzeylerinin gastrik kanserler de dahil olmak üzere çoğu kanser türünde tanı, prognoz ve tedavi takibi için kullanışlı bir biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir [3, 14, 15]. Ancak cerrahi yönetimi etkileyebilecek parametreler ile (ör. Yerleşim, T evresi, diferansiasyon, lenf nodu metastazı gibi) ile ilişkisi konusunda oldukça sınırlı veri vardır. Ayrıca popülasyonlara göre gastrik kanserlerin prognozlarının değişebilmesi, miRNA gibi genetik tabanlı belirteçlerde de değişiklik olabileceğini akla getirmektedir [133, 134]. Ülkemizde gastrik kanserli hastaların dolaşımdaki miRNA düzeyleri üzerine en kapsamlı çalışma Görür ve ark. tarafından yapılmış ve miR-195-5p'nin gastrik kanserli hastaların plazmasında downregüle olduğu bulunmuştur [320].

Bu çalışmamızda gastrik kanserlerin tanısı, cerrahi yönetimi ve prognozu etkileyen patolojik özellikleri ile serum miRNA ekspresyon düzeyleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi ve bulgularımızın güncel literatür bilgileri doğrultusunda tartışılması amaçlandı. Sonuçlarımıza göre serum miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p ve miR-203a-3p ekspresyon düzeylerinin gastrik kanserlerde tanısız biyobelirteçler olduğunu; serum miR-106b-5p, miR-146a-5p, miR-27a-3p, miR-148a-5p ekspresyon düzeylerinin de tanısız olmakla birlikte cerrahi yönetimi etkileyebilecek prognostik biyobelirteçlerdir. Serum miR-106b-5p ve miR-146a-5p ekspresyon düzeylerinin tümör lokalizasyonu ile ilişkili olması, serum miR-27a-3p ve miR-148a-5p ekspresyon düzeylerinin ise tümörün T evresi ile ilişkili bulunmasına dayanarak preoperatif

dönemde bu miRNA'ların ekspresyon düzeyleri yüksek olan hastalarda karar verilen gastrektomi türünü ve cerrahi lenf nodu diseksiyon genişliğinin tekrar gözden geçirilmesini sağlayacağını düşünüyoruz. Ayrıca serum miR-27a-3p ve miR-148a-5p'nin ekspresyon yüksekliğinin tümörün ileri bir T evresine sahip olabileceğini gösterdiğinden endoskopik submukozal diseksiyon kararında da etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

miR-17-5p gastrik kanserli hastaların tümör dokularında ve plazmada upregüle olmaktadır. Plazma seviyelerinin tanı, prognoz, diferansiasyon, TNM evresi ve sağkalım için kullanılabilecek bir biyobelirteç olabileceği, downregülasyonunun kemorezistansı önleyebileceği gösterilmiştir [243, 266, 271, 315, 394, 396, 398]. Son çalışmalar miR-17-92 kümesinin onkogen gibi işlev gördüğünü ve serum düzeylerinin upregülasyonunun gastrik kanser tanısında kullanılabileceğini göstermiştir [395, 397]. Çalışmamızda miR-17-5p gastrik kanserli hasta grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında serum ekspresyon düzeyleri anlamlı şekilde arttı (p: 0,03). Ayrıca kardiya yerleşimli gastrik kanserlerin tanısında (p: 0,001), diffüz tip gastrik kanser tanısında (p: 0,004), intestinal tip gastrik kanser tanısında (p: 0,04) değerli olabileceği görüldü. Nonkardiyak yerleşimli gastrik kanserli grupta da 2,16 kat upregüle olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p: 0,058). Ancak çalışmamızda erken gastrik kanserli hastaların tanısında miR-17-5p anlamlı olarak bulunmadı (p: 0,16). Serum miR-17-5p ekspresyon düzeylerinin prognostik faktörlerle anlamlı ilişkisi saptanmadı. Sonuçlarımız literatürle uyumlu olarak serum miR-17-5p ekspresyon düzeyinin gastrik kanser tanısında kullanılabileceğini göstermektedir.

miR-21'in ilk olarak hepatosellüler kanserlerde PTEN tümör supressor geninin kontrolünde rol aldığı bulunmuştur [375]. Ardından gastrik kanser dokularında upregüle olduğu, düzeylerinin sağkalımla ilişkili olduğu ve gastrik kanserlerde de PTEN tümör supressör geninin kontrolünde rol oynadığı gösterildi [285, 295, 376, 378, 379]. Devam eden çalışmalarda plazma düzeylerinin tanı, prognoz, TNM evresi ve tümör boyutu ile ilişkili olduğu bulundu [266, 302, 314, 377]. Serum ekspresyon düzeylerinin ise *H. pylori* eradikasyonu sonrası erken gastrik

kanser için artmış risk tespitinde ve tanıda kullanılabileceği; gastrik kanserli Hastalarda ise lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu gösterildi [306, 308, 317]. Gastrik sıvıda ise doku ve diğer dolaşımdaki düzeylerinin aksine downregüle olduğu ve tanıda kullanılabileceği bildirildi [299]. Peritoneal sıvıdaki düzeylerinin serozal invazyon ve peritoneal rekürrens ile ilişkili olduğu gösterildi [305]. Çalışmamızda çalışılan miRNA'lar arasında serum miR-21 ekspresyon düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre en fazla upregüle olan miRNA olarak göze çarpmaktadır (p: 0,000004). miR-21-5p, erken gastrik kanserli hastaların tanısında da yüksek derecede anlamlı olarak bulunmuştur (p: 0,000024). Ayrıca hem kardiyak hem nonkardiyak gastrik kanserlerin tanısında anlamlıdır (p: 0,001; 0,000021). Diffüz tip ve intestinal tiplerde de yüksek şekilde upregüle olmaktadır (p: 0,00007; 0,000004). Ancak çalışmamızda miR-21-5p düzeylerinin prognostik faktörlerle ilişkisi saptanmadı. Sonuçlarımız literatürle de uyumlu olarak miR-21-5p'in gastrik kanser başlangıcından itibaren serum ekspresyon düzeylerinin arttığını, buna bağlı olarak gastrik kanserin erken tanısında çok önemli bir biyobelirteç olarak olduğunu göstermektedir.

miR-27a ve miR-27b düzeylerinin gastrik kanserli dokularda upregüle olduğu ve lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu Katada ve ark. tarafından gösterilmesinin ardından serum ve plazma ekspresyon düzeylerinin prognoz, TNM evresi, progresyon, lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [267, 317, 391-393]. miR-27a-3p'nin gastrik kanserlerde onkogen gibi davrandığı gösterildi. Çalışmamızda serum miR-27a-3p ekspresyon düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı olduğu görüldü (p: 0,01). Erken gastrik kanserli hastalarda (p: 0,002), kardiyak gastrik kanserli hastalarda (p: 0,00001), nonkardiyak gastrik kanserli hastalarda (p: 0,03), diffüz tip gastrik kanserli hastalarda (p: 0,002) ve intestinal tip gastrik kanserli hastalarda (p: 0,01) anlamlı derecede serum ekspresyon düzeylerini artışı alt gruplarda da tanısız olarak başarılı bir biyobelirteç olduğunu göstermektedir. Çalışmamız serum miR-27a-3p ekspresyon düzeylerinin tümörün T evresi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (AUC: 0,748; p: 0,036). Ayrıca serum Ca 19-9 ve Ca 72-4 düzeyleri ile ilişkisi de miR-27a-3p'nin prognostik bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir. Sonuçlarımıza göre literatürle uyumlu

olarak serum miR-27a-3p ekspresyon düzeyleri gastrik kanser tanısında ve prognozunu belirlemede kullanılabilir bir biyobelirteçtir.

miR-101'in hepatosellüler karsinomda, nöroblastomda; prostat, meme kanserinde, kolon, mesane, over, serviks ve akciğer kanserinde downregüle olduğu gösterilmiştir [338, 339, 341, 342, 344-348]. Gastrik kanser dokularında downregülasyonun tümör büyümesi, migrasyon ve invazyon ile ilişkili olduğu, prognoz ve kemorezistans ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir [343, 350, 352]. Chen ve ark. miR-101'in upregülasyonunun *H. pylori* ilişkili kanserlerde tümörigenezisi inhibe ettiğini buldular [349]. Imamura ve ark. miR-101'in plazma düzeylerindeki downregülasyonun tümör progresyonu ile ilişkili olduğunu gösterdiler [351]. Ardından meme kanserinde miR-101-3p'nin proliferasyonu baskıladığı gösterildi [353]. Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarının serum miR-101-3p ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p: 0,43).

miR-106b'nin gastrik kanser dokularında upregülasyonunun 2009'da Yao ve ark. tarafından bildirilmesinin ardından 2010'da Tsujiura ve ark. gastrik kanserli Hastaların plazmalarında da miR-106a ve miR-106b'nin upregüle olduğunu ve tanısal değeri olduğunu gösterdiler [266, 380]. Devam eden çalışmalarda plazma düzeylerinin erken gastrik kanser tanısında, gastrik kanser Hastalarında prognostik bir belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [271, 309, 382]. Serum düzeylerinin *H. pylori* enfeksiyonu sonrası erken gastrik kanser oluşumu için risk göstergesi olduğu gösterilmiştir [308]. miR-106b'nin gastrik kanser karsinogenezisinde p21, E2F5, PTEN ve BRD4 etkileri çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir [254, 381]. miRNA-106b~25 kümesinin de doku ve plazmadaki düzeylerinin tanı, prognoz ve TNM ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [210, 383]. Çalışmamızda serum miR-106b-5p ekspresyon düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak (3,44 kat) artmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p: 0,07) ancak erken gastrik kanserli hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı şekilde arttığı görüldü (p: 0,049). miR-106b-5p'nin serum ekspresyon düzeylerinin kardiyak gastrik kanserli grupta anlamlı olarak arttığı bulundu (p: 0,001). Ancak nonkardiyak

gastrik kanserli grupta 2,93 kat artmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (p: 0,121). Aynı şekilde diffüz tip gastrik kanserli grupta anlamlı derecede ekspresyonu artarken (p: 0,006) intestinal tip gastrik kanserli gruptaki 3,61 kat artışı istatistiksel olarak anlamlı değildi (p: 0,057). miR-106-5p düzeylerinin tümör lokalizasyonu ile ilişkisi değerlendirildiğinde kardiyak yerleşimli tümörlerde daha fazla upregüle olduğu görüldü (AUC: 0,773; p: 0,049). Bu durum özellikle kardiyak yerleşimli gastrik kanserlerin tanısında, diffüz tip gastrik kanserlerin tanısında ve gastrik kanserlerin erken tanısında serum miR-106-5p ekspresyon düzeylerinin önemli bir tanısal biyobelirteç olabileceğini göstermektedir. Tümör lokalizasyonu ile güçlü ilişkisi nedeniyle de prognostik bir biyobelirteç olabileceğini de düşünüyoruz.

miR-146 geninin ilk olarak papiller tiroid kanseri dokularında upregüle olduğu bildirilmiştir [354]. Daha sonra miR-146a geninin rs2910164 polimorfizimi papiller tiroid kanserinde, hepatosellüler karsinomda, meme, over ve prostat kanserleri tespit edilmiştir [355-360]. Gastrik kanser dokularında ise downregüle olduğu, *H. pylori* negatif kanserlerde migrasyonu tetiklediği, düzeylerinin ise lenf nodu metastazı, venöz invazyon, prognoz, tümör progresyonu, periton yayılımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [361-363, 365, 366]. Serum düzeylerinin lenf nodu metastazını da gösteren prognostik bir biyobelirteç olabileceği bildirilmiştir [303, 317, 334]. Çalışmamızda literatürden farklı olarak serum miR-146a-5p düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede upregüle olduğu görüldü (p: 0,03). Ayrıca erken gastrik kanserli grupta (p: 0,01), kardiyak gastrik kanserli grupta (p: 0,00008) ve intestinal tip gastrik kanserli grupta (p: 0,01) anlamlı şekilde arttığı görüldü. Serum miR-146a-5p ekspresyon düzeylerinin tümör lokalizasyonu ile ilişkisi değerlendirildiğinde kardiyak yerleşimli tümörlerde daha fazla arttığı görüldü (AUC: 0,797; p: 0,036). Sonuçlarımız serum miR-146a-5p ekspresyon düzeylerinin kardiyak yerleşimli gastrik kanserlerin tanısında, intestinal tip gastrik kanserlerin tanısında ve gastrik kanserlerin erken tanısında önemli bir tanısal biyobelirteç, tümör lokalizasyonu ile güçlü ilişkisi nedeniyle de prognostik bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir.

miR-148a'nın gastrik kanser dokularında downregüle olduğu ve tanısallığı gösterilmiştir [286]. Serum düzeylerindeki downregülasyonun lenf nodu metastazı, tümör boyutu ve prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [317, 368]. Juzénas ve ark. miR-148a-3p'nin gastrik kanserli Hastaların serumlarında downregüle olduğunu bildirmişlerdir [367]. Çalışmamızda literatürden farklı olarak serum miR-148a-3p ekspresyon düzeyleri gastrik kanserli hastalarda normal bireylere göre anlamlı derecede artmıştı (p: 0,01). Ayrıca erken gastrik kanserli grupta da anlamlı şekilde artmıştı (p: 0,001). Kardiya yerleşimli gastrik kanserli grup (p: 0,0001) ve intestinal tip gastrik kanserli grupta da (p: 0,007) anlamlı şekilde arttığı görüldü. Çalışmamızda serum miRNA-148a-3p ekspresyon düzeylerinin tümörün T evresi ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir (AUC: 0,729; p: 0,049). Sonuçlarımız ve literatür miR-148a-3p'nin gastrik kanserlerin tanısında ve prognoz belirlemede önemli bir biyobelirteç olduğunu göstermiştir.

miR-200a ve miR-200b'nin EBV ilişkili gastrik kanser dokularında downregüle olduğu bildirilmiştir [369]. miR-200c'nin ise serum düzeylerindeki artışın kötü prognoz ve azalmış sağkalımla ilişkisi gösterilmiştir [370, 372]. Chen ve ark. miR-200a'nın gastrik kanser dokularında downregüle olurken özefagus kanser dokusunda upregüle olduğunu bildirdiler [371]. miR-200a-3p'nin özellikle erkek gastrik kanser hastalarının dokularında upregüle olduğu ve özefagus kanseri dokularında kanser hücrelerinin proliferasyonunu tetiklediği gösterildi [373, 374]. Serum düzeylerinin upregüle olduğu ve tanısallığı bildirilmiştir [331]. Çalışmamızda serum miR-200a-3p ekspresyon düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre 1,91 kat; kardiyak yerleşimli gastrik kanser grubunda da 2,67 kat artışına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p: 0,46; 0,23). Çalışmamızda serum miR-200a-3p düzeylerinin prognostik faktörlerle de anlamlı ilişkisi saptanmamıştır.

miR-203a'nın gastrik kanser dokularında downregüle olduğu ve bu downregülasyonun *H. pylori* enfeksiyonu ile tetiklendiği, ERK1/2/Slug/E-Cadherin yolağını etkileyerek invazyon ve metastazı inhibe ettiği; doku düzeylerinin ise klinik evre, lenf nodu metastazı ve sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [385, 386, 389,

390]. Imaoka ve ark. serum düzeylerinin ise tanı, prognoz, anjiolenfatik invazyon, peritoneal ve uzak metastaz, lenf nodu metastazı, karaciğer metastazı, TNM evresi ve kötü sağkalım ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir [323]. miR-203a-3p'nin ise IGF-1R'yi hedefleyerek tümör supresyonu yaptığı bildirilmiştir [390]. Çalışmamızda literatürden farklı olarak serum miR-203a-3p ekspresyon düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır (p: 0,04). Ancak erken gastrik kanserli grupta anlamlı bir şekilde artmadığı görüldü (p: 0,48). Kardiyak gastrik kanserli grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı artışı görülürken (p: 0,02); nonkardiyak gastrik kanserli grupta 2,31 kat artmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p: 0,06). Aynı şekilde diffüz tip gastrik kanserli grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı artışı görülürken (p: 0,03); intestinal tip gastrik kanserli grupta 2,33 kat artmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p: 0,09). Sonuçlarımıza göre serum miR-203a-3p ekspresyon düzeylerinin özellikle ilerleyen evrelerde daha fazla arttığını, bu nedenle prognostik bir biyobelirteç olabileceğini düşünüyoruz.

6. SONUÇ

Birçok kanser türünde olduğu gibi gastrik kanserlerin de karsinogenezisinde miRNA'lar önemli rol oynaması, miRNA'ların tanısal ve prognostik bir biyobelirteç olarak kullanılmasını gündeme getirmektedir. Serum miRNA'ların noninvaziv bir şekilde elde edilebilir olması ve tekrarlanabilir olması nedeniyle bu konuda ön plana çıkmaktadır.

Bu çalışmada serum miR-17-5p, miR-21-5p, miR-27a-3p ve miR-203a-3p ekspresyon düzeylerinin gastrik kanserlerde tanısal biyobelirteçler olduğunu; serum miR-106b-5p, miR-146a-5p, serum miR-27a-3p, miR-148a-5p ekspresyon düzeylerinin de tanısal olmakla birlikte cerrahi yönetimi etkileyebilecek prognostik biyobelirteçler olduğunu gösterdik.

Serum miR-106b-5p ve miR-146a-5p ekspresyon düzeylerinin tümör lokalizasyonu ile ilişkili olması, serum miR-27a-3p ve miR-148a-5p ekspresyon düzeylerinin ise tümörün T evresi ile ilişkili bulunmasına dayanarak preoperatif dönemde bu miRNA'ların ekspresyon düzeyleri yüksek olan hastalarda karar verilen gastrektomi türünü ve cerrahi lenf nodu diseksiyon genişliğinin tekrar gözden geçirilmesini sağlayacağını düşünüyoruz. Ayrıca serum miR-27a-3p ve miR-148a-5p'nin ekspresyon yüksekliğinin tümörün ileri bir T evresine sahip olabileceğini gösterdiğinden endoskopik submukozal diseksiyon kararında da etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Literatürle çalışmamız arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi, serum miRNA ekspresyon düzeylerinin gastrik karsinogenezisteki sebep-sonuç ilişkisindeki yerinin gösterilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızın gastrik kanserlerin tek küratif tedavi yöntemi olarak kabul edilen cerrahi yönetiminde ileri çalışmalara öncü olabileceğini düşünüyoruz.

7. KAYNAKLAR

1. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA Cancer J Clin, 2018. 68(6): p. 394-424.
2. Mi, L., X. Ji, and J.J.T.G.C. Ji, *Prognostic biomarker in advanced gastric cancer*. 2016, 2016. 5(1): p. 16-29.
3. Annie On On Chan, B.W., *Epidemiology of gastric cancer*, in *UpToDate*, Waltham, MA. Sep 07, 2017.
4. Inoue, H., S.-e. Kudo, and A. Shiokawa, *Technology Insight: laser-scanning confocal microscopy and endocytoscopy for cellular observation of the gastrointestinal tract*. Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology, 2005. 2: p. 31.
5. Tsujimoto, H., et al., *Roles of inflammatory cytokines in the progression of gastric cancer: friends or foes?* Gastric Cancer, 2010. 13(4): p. 212-221.
6. He, C.-Z., et al., *Combined use of AFP, CEA, CA125 and CA19-9 improves the sensitivity for the diagnosis of gastric cancer*. BMC gastroenterology, 2013. 13: p. 87-87.
7. Wang, J., et al., *Treatment strategy for early gastric cancer*. Surgical Oncology, 2012. 21(2): p. 119-123.
8. Shekari, N., et al., *Circulating MicroRNAs: Valuable Biomarkers for the Diagnosis and Prognosis of Gastric Cancer*. Curr Med Chem, 2018. 25(6): p. 698-714.
9. Herranz, H. and S.M. Cohen, *MicroRNAs and gene regulatory networks: managing the impact of noise in biological systems*. Genes & development, 2010. 24(13): p. 1339-1344.
10. Wu, W.K.K., et al., *MicroRNA dysregulation in gastric cancer: a new player enters the game*. Oncogene, 2010. 29: p. 5761.
11. Ng, E.K.O., et al., *Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening*. Gut, 2009. 58(10): p. 1375.
12. Hanke, M., et al., *A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer*. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations, 2010. 28(6): p. 655-661.
13. Park, N.J., et al., *Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection*. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research, 2009. 15(17): p. 5473-5477.
14. Schwarzenbach, H., et al., *Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer*. Nature Reviews Clinical Oncology, 2014. 11: p. 145.
15. Kosaka, N., H. Iguchi, and T. Ochiya, *Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis*. Cancer Science, 2010. 101(10): p. 2087-2092.
16. Kozomara, A. and S. Griffiths-Jones, *miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data*. Nucleic Acids Research, 2013. 42(D1): p. D68-D73.
17. Annie On On Chan, B.W., *Epidemiology of gastric cancer*, in *UpToDate*, Waltham, MA. Sep 07, 2017.
18. Haenszel, W., *Variation in Incidence of and Mortality from Stomach Cancer, with Particular Reference to the United States*². JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 1958. 21(2): p. 213-262.

19. Muñoz, N. and J. Asvall, *Time trends of intestinal and diffuse types of gastric cancer in Norway*. International Journal of Cancer, 1971. 8(1): p. 144-157.
20. Zhu, A.L. and A. Sonnenberg, *Is Gastric Cancer Again Rising?* 2012. 46(9): p. 804-806.
21. Coggon, D., et al., *Stomach Cancer and Food Storage*. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 1989. 81(15): p. 1178-1182.
22. La Vecchia, C., et al., *Electric refrigerator use and gastric cancer risk*. British journal of cancer, 1990. 62(1): p. 136-137.
23. Kolonel LN, H.J., Nomura AMY, *Multiethnic studies of diet, nutrition, and cancer in Hawaii*. In: Hayashi Y, Nagao M, Sugimura T, et al, eds. Diet, Nutrition and Cancer. Proceedings of the 16th International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund; Tokyo, Japan; 1985. Tokyo: Japan Scientific Societies Press; Utrecht, the Netherlands: VNU Science Press BV, 1985. 1986:29-40.
24. Howson CP, H.T., Wynder EL., *The decline in gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph*. Epidemiol Rev, 1986. 8: p. 1-27.
25. deMartel C, P.J., *Stomach cancer*. In: Thun MJ, Linet MS, Cerhan JR, Haiman CA, Schottenfeld D, eds. *Cancer Epidemiology and Prevention*. 4th ed. . New York: Oxford University Press, 2018: p. 593-610.
26. Humans, I.W.G.o.t.E.o.C.R.t., *Infection with Helicobacter pylori*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 1994. 61: p. 177-240.
27. Plummer, M., et al., *Global burden of gastric cancer attributable to Helicobacter pylori*. International Journal of Cancer, 2015. 136(2): p. 487-490.
28. (WCRF/AICR), W.C.R.F.A.I.f.C.R., *Continuous Update Project Report: Diet, Nutrition, Physical Activity and Stomach Cancer 2016. Revised 2018*. London: World Cancer Research Fund International; 2018, 2018.
29. Humans, I.W.G.o.t.E.o.C.R.t., *A review of human carcinogens*. Personal habits and indoor combustions., 2012. 100: p. 1-538.
30. Annie On On Chan, B.W., *Risk factors for gastric cancer*. UpToDate, Waltham, MA, Jan 25, 2019.
31. Correa, P., *A Human Model of Gastric Carcinogenesis*. Cancer Research, 1988. 48(13): p. 3554.
32. Sobala, G.M., et al., *Bile reflux and intestinal metaplasia in gastric mucosa*. Journal of clinical pathology, 1993. 46(3): p. 235-240.
33. Correa P, C.C., Duque E, *Carcinoma and intestinal metaplasia of the stomach in Colombian migrants*. J Natl Cancer Inst., 1970. Feb;44(2): p. 297-306.
34. Sasajima, K., et al., *Intestinal metaplasia and adenocarcinoma induced in the stomach of rats by N-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 1979. 94(2): p. 201-206.
35. Shimoyama T, F.S., Tanaka M, Nakaji S, Munakata A., *Evaluation of the applicability of the gastric carcinoma risk index for intestinal type cancer in Japanese patients infected with Helicobacter pylori*. Virchows Arch, 2000. Jun;436(6): p. 585-587.
36. You, W.-c., et al., *Precancerous Gastric Lesions in a Population at High Risk of Stomach Cancer*. Cancer Research, 1993. 53(6): p. 1317.
37. Rugge M, F.F., Baffa R, Sonogo F, Di Mario F, Leandro G, Valiante F., *Gastric epithelial dysplasia in the natural history of gastric cancer: a multicenter prospective follow-up study*. Interdisciplinary Group on Gastric Epithelial Dysplasia. Gastroenterology, 1994. Nov;107(5): p. 1288-1296.
38. Tsugane, S. and S. Sasazuki, *Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence*. Gastric Cancer, 2007. 10(2): p. 75-83.
39. Organization, W.H., *Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases*. WHO technical report series 916. Geneva; World Health Organization, 2003.

40. Joossens JV, H.M., Elliott P, Stamler R, Lesaffre E, Dyer A, Nichols R, Kesteloot H, *Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries. European Cancer Prevention (ECP) and the INTERSALT Cooperative Research Group.* Int J Epidemiol, 1996. Jun;25(3): p. 494-504.
41. Kono S, H.T., *Nutrition and stomach cancer.* Cancer Causes Control, 1996. 1996 Jan;7(1): p. 41-55.
42. Shikata, K., et al., *A prospective study of dietary salt intake and gastric cancer incidence in a defined Japanese population: The Hisayama study.* International Journal of Cancer, 2006. 119(1): p. 196-201.
43. Peleteiro, B., et al., *Salt intake and gastric cancer risk according to Helicobacter pylori infection, smoking, tumour site and histological type.* British journal of cancer, 2011. 104(1): p. 198-207.
44. Tatematsu M, T.M., Fukushima S, Hananouchi M, Shirai T., *Effects in rats of sodium chloride on experimental gastric cancers induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinoline-1-oxide.* J Natl Cancer Inst., 1975. Jul;55(1): p. 101-106.
45. Takahashi M, K.T., Furukawa F, Kurokawa Y, Hayashi Y., *Effects of sodium chloride, saccharin, phenobarbital and aspirin on gastric carcinogenesis in rats after initiation with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.* Gan, 1984. Jun;75(6): p. 494-501.
46. Wanebo, H.J., et al., *Cancer of the stomach. A patient care study by the American College of Surgeons.* Annals of surgery, 1993. 218(5): p. 583-592.
47. Kahrilas, P.J., et al., *Comparison of pseudoachalasia and achalasia.* The American Journal of Medicine, 1987. 82(3): p. 439-446.
48. Morgenstern, L., *The Virchow-Troisier node: A historical note.* The American Journal of Surgery, 1979. 138(5): p. 703.
49. Pieslor, P.C. and L.G. Hefter, *Umbilical metastasis from prostatic carcinoma—Sister Joseph nodule.* Urology, 1986. 27(6): p. 558-559.
50. Gilliland, R. and P.J. Gill, *Incidence and prognosis of Krukenberg tumour in Northern Ireland.* BJS, 1992. 79(12): p. 1364-1366.
51. Be, W.B., *Blumer's shelf tumor with primary carcinoma of the lung. A case report.* J Int Coll Surg, 1965. Nov;44(5): p. 477-481.
52. Fuchs, C.S. and R.J. Mayer, *Gastric Carcinoma.* New England Journal of Medicine, 1995. 333(1): p. 32-41.
53. Brown J, W.R., *Acanthosis nigricans: a study of 90 cases.* Medicine (Baltimore), 1968. Jan;47(1): p. 33-51.
54. Dantzig, P.I., *Sign of Leser-Trélat.* Archives of Dermatology, 1973. 108(5): p. 700-701.
55. Antman KH, S.A., Mayer RJ, Hargreaves HK, Canellos GP, *Microangiopathic hemolytic anemia and cancer: a review.* Medicine (Baltimore), 1979. Sep;58(5): p. 377-384.
56. Wakashin M, W.Y., Iesato K, Ueda S, Mori Y, Tsuchida H, Shigematsu H, Okuda K, *Association of gastric cancer and nephrotic syndrome. An immunologic study in three patients.* Gastroenterology, 1980. Apr;78(4): p. 749-756.
57. Sack GH Jr, L.J., Bell WR, *Trousseau's syndrome and other manifestations of chronic disseminated coagulopathy in patients with neoplasms: clinical, pathophysiologic, and therapeutic features.* Medicine (Baltimore), 1977. Jan;56(1): p. 1-37.
58. Poveda, F., et al., *Systemic polyarteritis nodosa as the initial manifestation of a gastric adenocarcinoma.* Journal of Internal Medicine, 1994. 236(6): p. 679-683.
59. Graham DY, S.J., Cain GD, Gyorkey F., *Prospective evaluation of biopsy number in the diagnosis of esophageal and gastric carcinoma.* Gastroenterology, 1982. Feb;82(2): p. 228-231.

60. Karita, M. and M. Tada, *Endoscopic and histologic diagnosis of submucosal tumors of the gastrointestinal tract using combined strip biopsy and bite biopsy*. Gastrointestinal Endoscopy, 1994. 40(6): p. 749-753.
61. Dooley, C.P., et al., *Double-Contrast Barium Meal and Upper Gastrointestinal Endoscopy: A Comparative Study*. Annals of Internal Medicine, 1984. 101(4): p. 538-545.
62. Longo WE, Z.K., Zdon MJ, Modlin IM, *Detection of early gastric cancer in an aggressive endoscopy unit*. Am Surg, 1989. Feb;55(2): p. 100-104.
63. P., L., *The Two Histological Main Types Of Gastric Carcinoma: Diffuse And So-Called Intestinal-Type Carcinoma. An Attempt At A Histo-Clinical Classification*. Acta Pathol Microbiol Scand, 1965. 1965;64: p. 31-49.
64. Laurén PA, N.T., *Epidemiology of intestinal and diffuse types of gastric carcinoma. A time-trend study in Finland with comparison between studies from high- and low-risk areas*. Cancer, 1993. May 15;71(10): p. 2926-2933.
65. Association, J.G.C., *Japanese Classification of Gastric Carcinoma - 2nd English Edition*. Gastric Cancer, 1998. Dec;1(1): p. 10-24.
66. Hasuo, T., et al., *Assessment of microsatellite instability status for the prediction of metachronous recurrence after initial endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer*. British journal of cancer, 2007. 96(1): p. 89-94.
67. Yamamoto, H., et al., *Gastric cancers of the microsatellite mutator phenotype display characteristic genetic and clinical features*. Gastroenterology, 1999. 116(6): p. 1348-1357.
68. Xiangming, C., et al., *Cooccurrence of Reduced Expression of α -Catenin and Overexpression of p53 Is a Predictor of Lymph Node Metastasis in Early Gastric Cancer*. Oncology, 1999. 57(2): p. 131-137.
69. Cancer Genome Atlas Research, N., *Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma*. Nature, 2014. 513(7517): p. 202-209.
70. Shiao, Y.-H., et al., *Microsatellite instability and/or loss of heterozygosity in young gastric cancer patients in Italy*. International Journal of Cancer, 1999. 82(1): p. 59-62.
71. Japanese Gastric Cancer, A., *Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4)*. Gastric cancer : official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association, 2017. 20(1): p. 1-19.
72. Amin, M.B., et al., *The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging*. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2017. 67(2): p. 93-99.
73. Kim, S.J., et al., *Peritoneal Metastasis: Detection with 16- or 64-Detector Row CT in Patients Undergoing Surgery for Gastric Cancer*. Radiology, 2009. 253(2): p. 407-415.
74. Lowy, A.M., et al., *Laparoscopic staging for gastric cancer*. Surgery, 1996. 119(6): p. 611-614.
75. Feussner, H., et al., *Pretherapeutic Laparoscopic Staging in Advanced Gastric Carcinoma*. Endoscopy, 1999. 31(05): p. 342-347.
76. Power, D.G., et al., *Endoscopic Ultrasound Can Improve the Selection for Laparoscopy in Patients with Localized Gastric Cancer*. Journal of the American College of Surgeons, 2009. 208(2): p. 173-178.
77. Davies, J., et al., *Spiral computed tomography and operative staging of gastric carcinoma: a comparison with histopathological staging*. Gut, 1997. 41(3): p. 314-319.
78. Abdalla, E.K. and P.W.T. Pisters, *Staging and preoperative evaluation of upper gastrointestinal malignancies*. Seminars in Oncology, 2004. 31(4): p. 513-529.

79. Minami, M., et al., *Gastric tumors: radiologic-pathologic correlation and accuracy of T staging with dynamic CT*. Radiology, 1992. 185(1): p. 173-178.
80. Rossi, M., et al., *Hydro-CT in patients with gastric cancer: Preoperative radiologic staging*. European Radiology, 1997. 7(5): p. 659-664.
81. Shimizu, K., et al., *Diagnosis of Gastric Cancer with MDCT Using the Water-Filling Method and Multiplanar Reconstruction: CT–Histologic Correlation*. American Journal of Roentgenology, 2005. 185(5): p. 1152-1158.
82. Lee, I.J., et al., *Diagnostic Performance of 64-Channel Multidetector CT in the Evaluation of Gastric Cancer: Differentiation of Mucosal Cancer (T1a) from Submucosal Involvement (T1b and T2)*. Radiology, 2010. 255(3): p. 805-814.
83. D'Elia, F., et al., *Hydro-dynamic CT preoperative staging of gastric cancer: correlation with pathological findings. A prospective study of 107 cases*. European Radiology, 2000. 10(12): p. 1877-1885.
84. Kim, I.Y., et al., *MRI of gastric carcinoma: results of T and N-staging in an in vitro study*. World journal of gastroenterology, 2009. 15(32): p. 3992-3998.
85. Kienle, P., et al., *Prospective Comparison of Endoscopy, Endosonography and Computed Tomography for Staging of Tumours of the Oesophagus and Gastric Cardia*. Digestion, 2002. 66(4): p. 230-236.
86. Wakelin, S.J., et al., *A comparison of computerised tomography, laparoscopic ultrasound and endoscopic ultrasound in the preoperative staging of oesophago-gastric carcinoma*. European Journal of Radiology, 2002. 41(2): p. 161-167.
87. Yan, C., et al., *Value of multidetector-row computed tomography in the preoperative T and N staging of gastric carcinoma: A large-scale Chinese study*. Journal of Surgical Oncology, 2009. 100(3): p. 205-214.
88. Yoshida, S., et al., *Diagnostic ability of high-frequency ultrasound probe sonography in staging early gastric cancer, especially for submucosal invasion*. Abdominal Imaging, 2005. 30(5): p. 518-523.
89. Mocellin, S. and S. Pasquali, *Diagnostic accuracy of endoscopic ultrasonography (EUS) for the preoperative locoregional staging of primary gastric cancer*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2015(2).
90. De Potter, T., et al., *Whole-body PET with FDG for the diagnosis of recurrent gastric cancer*. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2002. 29(4): p. 525-529.
91. Yun, M., et al., *Lymph Node Staging of Gastric Cancer Using 18F-FDG PET: A Comparison Study with CT*. Journal of Nuclear Medicine, 2005. 46(10): p. 1582-1588.
92. Stahl, A., et al., *FDG PET imaging of locally advanced gastric carcinomas: correlation with endoscopic and histopathological findings*. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2003. 30(2): p. 288-295.
93. Kim, S.-K., et al., *Assessment of lymph node metastases using 18F-FDG PET in patients with advanced gastric cancer*. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2006. 33(2): p. 148-155.
94. Mukai, K., et al., *Usefulness of preoperative FDG-PET for detection of gastric cancer*. Gastric Cancer, 2006. 9(3): p. 192-196.
95. Chen, J., et al., *Improvement in preoperative staging of gastric adenocarcinoma with positron emission tomography*. Cancer, 2005. 103(11): p. 2383-2390.
96. Graziosi, L., et al., *The role of 18 FDG-PET in gastric cancer*. 2012, 2012. 1(2): p. 186-188.
97. Kinkel, K., et al., *Detection of Hepatic Metastases from Cancers of the Gastrointestinal Tract by Using Noninvasive Imaging Methods (US, CT, MR Imaging, PET): A Meta-Analysis*. Radiology, 2002. 224(3): p. 748-756.

98. Smyth, E., et al., *A prospective evaluation of the utility of 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucose positron emission tomography and computed tomography in staging locally advanced gastric cancer*. Cancer, 2012. 118(22): p. 5481-5488.
99. Yoshioka, T., et al., *Evaluation of 18F-FDG PET in Patients with Advanced, Metastatic, or Recurrent Gastric Cancer*. 2003. 44(5): p. 690-699.
100. Mihmanli M, D.E., Demir U, Coskun H, Eroglu T, Uysalol MD, *The use of tumor markers as predictors of prognosis in gastric cancer*. Hepatogastroenterology, 2004. Sep-Oct;51(59): p. 1544-1547.
101. Marrelli, D., et al., *Preoperative positivity of serum tumor markers is a strong predictor of hematogenous recurrence of gastric cancer*. Journal of Surgical Oncology, 2001. 78(4): p. 253-258.
102. Kochi M, F.M., Kanamori N, Kaiga T, Kawakami T, Aizaki K, Kasahara M, Mochizuki F, Kasakura Y, Yamagata M., *Evaluation of serum CEA and CA19-9 levels as prognostic factors in patients with gastric cancer*. Gastric Cancer, 2000. Dec;3(4): p. 177-186.
103. Bold RJ, O.D., Ajani JA, Mansfield PF, *Peritoneal and serum tumor markers predict recurrence and survival of patients with resectable gastric cancer*. Gastric Cancer, 1999. May;2(1): p. 1-7.
104. Ishigami, S., et al., *Clinical Importance of Preoperative Carcinoembryonic Antigen and Carbohydrate Antigen 19-9 Levels in Gastric Cancer*. 2001. 32(1): p. 41-44.
105. Kim DY, K.H., Shim JH, Park CS, Kim SK, Kim YJ, *Significance of serum and tissue carcinoembryonic antigen for the prognosis of gastric carcinoma patients*. J Surg Oncol, 2000. Jul;74(3): p. 185-192.
106. Marrelli, D., et al., *Prognostic Significance of CEA, CA 19-9 and CA 72-4 Preoperative Serum Levels in Gastric Carcinoma*. Oncology, 1999. 57(1): p. 55-62.
107. Nakata B, H.-Y.C.K., Kato Y, Yamashita Y, Maeda K, Onoda N, Sawada T, Sowa M, *Serum CA 125 level as a predictor of peritoneal dissemination in patients with gastric carcinoma*. Cancer, 1998. Dec 15;83(12): p. 2488-2492.
108. Tocchi, A., et al., *The role of serum and gastric juice levels of carcinoembryonic antigen, CA19.9 and CA72.4 in patients with gastric cancer*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 1998. 124(8): p. 450-455.
109. Sakamoto, J., et al., *Association between preoperative plasma CEA levels and the prognosis of gastric cancer following curative resection*. Surgical Oncology, 1996. 5(3): p. 133-139.
110. Takahashi, Y., et al., *The usefulness of CEA and/or CA19-9 in monitoring for recurrence in gastric cancer patients: a prospective clinical study*. Gastric Cancer, 2003. 6(3): p. 142-145.
111. Liu, X., et al., *Clinicopathologic features and prognostic factors in alpha-fetoprotein-producing gastric cancers: Analysis of 104 cases*. Journal of Surgical Oncology, 2010. 102(3): p. 249-255.
112. Kono, K., et al., *Clinicopathologic Features of Gastric Cancers Producing Alpha-Fetoprotein*. Digestive Surgery, 2002. 19(5): p. 359-365.
113. Chang YC, N.N., Kohno H, Taniura H, Uchida M, Yamanoi A, Kimoto T, Nakamura T, *Clinicopathologic features and long-term results of alpha-fetoprotein-producing gastric cancer*. Am J Gastroenterol, 1990. Nov;85(11): p. 1480-1485.
114. Ushiku, T., et al., *Glypican 3-expressing gastric carcinoma: Distinct subgroup unifying hepatoid, clear-cell, and α -fetoprotein-producing gastric carcinomas*. Cancer Science, 2009. 100(4): p. 626-632.
115. Gayet, B., et al., *Accuracy of staging laparoscopy in detecting peritoneal dissemination in patients with gastroesophageal adenocarcinoma*. Diseases of the Esophagus, 2016. 29(3): p. 236-240.

116. Leake, P.-A., et al., *A systematic review of the accuracy and indications for diagnostic laparoscopy prior to curative-intent resection of gastric cancer*. Gastric Cancer, 2012. 15(1): p. 38-47.
117. Abe, S.I., et al., *Curative resection of gastric cancer: Limitation of peritoneal lavage cytology in predicting the outcome*. Journal of Surgical Oncology, 1995. 59(4): p. 226-229.
118. Burke EC, K.M.J., Conlon KC, Brennan MF, *Peritoneal lavage cytology in gastric cancer: an independent predictor of outcome*. Ann Surg Oncol, 1998. Jul-Aug;5(5): p. 411-415.
119. Leake, P.-A., et al., *A systematic review of the accuracy and utility of peritoneal cytology in patients with gastric cancer*. Gastric Cancer, 2012. 15(1): p. 27-37.
120. Harvey Mamon, P.C.E., *Adjuvant and neoadjuvant treatment of gastric cancer*. UpToDate, Waltham, MA, Jan 18, 2019.
121. Morgan, D., *Early gastric cancer: Treatment, natural history, and prognosis*, in *UpToDate*, Waltham, MA. Apr 24, 2018.
122. Mansfield, P.F., *Surgical management of invasive gastric cancer*. UpToDate, Waltham, MA, Oct 15, 2018.
123. Mansfield, P.F., *Clinical features, diagnosis, and staging of gastric cancer*. UpToDate, Waltham, MA, Nov 14, 2017.
124. Tyrväinen, T., et al., *Quality of life in the long-term survivors after total gastrectomy for gastric carcinoma*. Journal of Surgical Oncology, 2008. 97(2): p. 121-124.
125. Bozzetti, F., et al., *Subtotal versus total gastrectomy for gastric cancer: five-year survival rates in a multicenter randomized Italian trial. Italian Gastrointestinal Tumor Study Group*. Annals of surgery, 1999. 230(2): p. 170-178.
126. Gouzi, J.L., et al., *Total versus subtotal gastrectomy for adenocarcinoma of the gastric antrum. A French prospective controlled study*. Annals of surgery, 1989. 209(2): p. 162-166.
127. Pu YW, G.W., Wu YY, Chen Q, He TF, Xing CG, *Proximal gastrectomy versus total gastrectomy for proximal gastric carcinoma. A meta-analysis on postoperative complications, 5-year survival, and recurrence rate*. Saudi Med J, 2013. Dec;34(12): p. 1223-1228.
128. Japanese Gastric Cancer, A., *Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition*. Gastric Cancer, 2011. 14(2): p. 101-112.
129. Cuschieri, A., et al., *Postoperative morbidity and mortality after D1 and D2 resections for gastric cancer: preliminary results of the MRC randomised controlled surgical trial*. The Lancet, 1996. 347(9007): p. 995-999.
130. Bonenkamp, J.J., et al., *Extended Lymph-Node Dissection for Gastric Cancer*. New England Journal of Medicine, 1999. 340(12): p. 908-914.
131. Hartgrink, H.H., et al., *Extended Lymph Node Dissection for Gastric Cancer: Who May Benefit? Final Results of the Randomized Dutch Gastric Cancer Group Trial*. Journal of Clinical Oncology, 2004. 22(11): p. 2069-2077.
132. Cuschieri, A., et al., *Patient survival after D1 and D2 resections for gastric cancer: long-term results of the MRC randomized surgical trial. Surgical Co-operative Group*. British journal of cancer, 1999. 79(9-10): p. 1522-1530.
133. Maruyama, K., K. Okabayashi, and T. Kinoshita, *Progress in gastric cancer surgery in Japan and its limits of radicality*. World Journal of Surgery, 1987. 11(4): p. 418-425.
134. Verdecchia, A., et al., *Comparison of stomach cancer incidence and survival in four continents*. European Journal of Cancer, 2003. 39(11): p. 1603-1609.
135. Petrelli, F., et al., *Prognostic Role of Primary Tumor Location in Non-Metastatic Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of 50 Studies*. Annals of Surgical Oncology, 2017. 24(9): p. 2655-2668.

136. Amato, E., et al., *A clinical–biological risk stratification model for resected gastric cancer: prognostic impact of Her2, Fhit, and APC expression status*. *Annals of Oncology*, 2012. 24(3): p. 693-701.
137. Akazawa, K., et al., *Development and external validation of a nomogram for overall survival after curative resection in serosa-negative, locally advanced gastric cancer*. *Annals of Oncology*, 2014. 25(6): p. 1179-1184.
138. Dikken, J.L., et al., *Conditional probability of survival nomogram for 1-, 2-, and 3-year survivors after an R0 resection for gastric cancer*. *Annals of surgical oncology*, 2013. 20(5): p. 1623-1630.
139. Dikken, J.L., et al., *Performance of a Nomogram Predicting Disease-Specific Survival After an R0 Resection for Gastric Cancer in Patients Receiving Postoperative Chemoradiation Therapy*. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*, 2014. 88(3): p. 624-629.
140. Bencivenga, M., et al., *Validation of two prognostic models for recurrence and survival after radical gastrectomy for gastric cancer*. *BJS*, 2017. 104(9): p. 1235-1243.
141. Chen, S., et al., *A nomogram to predict prognosis for gastric cancer with peritoneal dissemination*. *Chinese journal of cancer research = Chung-kuo yen cheng yen chiu*, 2018. 30(4): p. 449-459.
142. Han, D.-S., et al., *Nomogram Predicting Long-Term Survival After D2 Gastrectomy for Gastric Cancer*. *Journal of Clinical Oncology*, 2012. 30(31): p. 3834-3840.
143. Novotny, A.R., et al., *Predicting individual survival after gastric cancer resection: validation of a U.S.-derived nomogram at a single high-volume center in Europe*. *Annals of surgery*, 2006. 243(1): p. 74-81.
144. Chekanova, J.A. and D.A. Belostotsky, *MicroRNAs and messenger RNA turnover*. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 2006. 342: p. 73-85.
145. Huang, Q., et al., *MicroRNA-10b and the clinical outcomes of various cancers: A systematic review and meta-analysis*. *Clin Chim Acta*, 2017. 474: p. 14-22.
146. Bartel, D.P., *MicroRNAs: target recognition and regulatory functions*. *Cell*, 2009. 136(2): p. 215-233.
147. Lee, R.C., R.L. Feinbaum, and V. Ambros, *The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14*. *Cell*, 1993. 75(5): p. 843-854.
148. Irmak-Yazicioglu, M.B., *Mechanisms of MicroRNA Deregulation and MicroRNA Targets in Gastric Cancer*. *Oncol Res Treat*, 2016. 39(3): p. 136-139.
149. Chang, P.Y., et al., *MicroRNA-223 and microRNA-92a in stool and plasma samples act as complementary biomarkers to increase colorectal cancer detection*. *Oncotarget*, 2016. 7(9): p. 10663-10675.
150. Zhou, X., et al., *Diagnostic value of a plasma microRNA signature in gastric cancer: a microRNA expression analysis*. *Scientific Reports*, 2015. 5: p. 11251.
151. Yan, Y., et al., *Roles of microRNAs in cancer associated fibroblasts of gastric cancer*. *Pathol Res Pract*, 2017. 213(7): p. 730-736.
152. Yates, Luke A., Chris J. Norbury, and Robert J.C. Gilbert, *The Long and Short of MicroRNA*. *Cell*, 2013. 153(3): p. 516-519.
153. CAI, X., C.H. HAGEDORN, and B.R. CULLEN, *Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs*. 2004. 10(12): p. 1957-1966.
154. Rupaimoole, R., et al., *miRNA Deregulation in Cancer Cells and the Tumor Microenvironment*. *Cancer Discovery*, 2016. 6(3): p. 235.
155. Winter, J., et al., *Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation*. *Nature Cell Biology*, 2009. 11: p. 228.

156. Melo, S.A. and M. Esteller, *Dysregulation of microRNAs in cancer: Playing with fire*. FEBS Letters, 2011. 585(13): p. 2087-2099.
157. Xia, T., et al., *Long noncoding RNA FER1L4 suppresses cancer cell growth by acting as a competing endogenous RNA and regulating PTEN expression*. Scientific reports, 2015. 5: p. 13445-13445.
158. Toscano-Garibay, J.D. and G. Aquino-Jarquin, *Transcriptional regulation mechanism mediated by miRNA-DNA•DNA triplex structure stabilized by Argonaute*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms, 2014. 1839(11): p. 1079-1083.
159. Majid, S., et al., *MicroRNA-205-directed transcriptional activation of tumor suppressor genes in prostate cancer*. Cancer, 2010. 116(24): p. 5637-5649.
160. Zardo, G., et al., *Polycombs and microRNA-223 regulate human granulopoiesis by transcriptional control of target gene expression*. Blood, 2012. 119(17): p. 4034.
161. Labib, M. and M.V. Berezovski, *Electrochemical sensing of microRNAs: Avenues and paradigms*. Biosensors and Bioelectronics, 2015. 68: p. 83-94.
162. Kawaguchi, T., et al., *Circulating MicroRNAs: A Next-Generation Clinical Biomarker for Digestive System Cancers*. International journal of molecular sciences, 2016. 17(9): p. 1459.
163. Válczi, A., et al., *Sensitive and specific detection of microRNAs by northern blot analysis using LNA-modified oligonucleotide probes*. Nucleic acids research, 2004. 32(22): p. e175-e175.
164. Castoldi, M., et al., *A sensitive array for microRNA expression profiling (miChip) based on locked nucleic acids (LNA)*. RNA (New York, N.Y.), 2006. 12(5): p. 913-920.
165. Hafner, M., et al., *Barcoded cDNA library preparation for small RNA profiling by next-generation sequencing*. Methods (San Diego, Calif.), 2012. 58(2): p. 164-170.
166. Shen, Y., et al., *Amplification-based method for microRNA detection*. Biosensors and Bioelectronics, 2015. 71: p. 322-331.
167. Chen, C., et al., *Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR*. Nucleic acids research, 2005. 33(20): p. e179-e179.
168. Zampetaki, A. and M. Mayr, *Analytical challenges and technical limitations in assessing circulating MiRNAs*. Thromb Haemost, 2012. 108(10): p. 592-598.
169. Fabris, L. and G.A. Calin, *Circulating free xeno-microRNAs - The new kids on the block*. Molecular oncology, 2016. 10(3): p. 503-508.
170. Valadi, H., et al., *Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells*. Nature Cell Biology, 2007. 9: p. 654.
171. Chim, S.S.C., et al., *Detection and Characterization of Placental MicroRNAs in Maternal Plasma*. Clinical Chemistry, 2008. 54(3): p. 482.
172. Mitchell, P.S., et al., *Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008. 105(30): p. 10513-10518.
173. Chen, X., et al., *Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases*. Cell Research, 2008. 18: p. 997.
174. Weber, J.A., et al., *The microRNA spectrum in 12 body fluids*. Clinical chemistry, 2010. 56(11): p. 1733-1741.
175. Powrózek, T., et al., *Plasma circulating microRNA-944 and microRNA-3662 as potential histologic type-specific early lung cancer biomarkers*. Translational Research, 2015. 166(4): p. 315-323.
176. Chang, P.-Y., et al., *MicroRNA-223 and microRNA-92a in stool and plasma samples act as complementary biomarkers to increase colorectal cancer detection*. Oncotarget, 2016. 7(9): p. 10663-10675.

177. Théry, C., L. Zitvogel, and S. Amigorena, *Exosomes: composition, biogenesis and function*. Nature Reviews Immunology, 2002. 2: p. 569.
178. Xiang, Y., et al., *MiR-152 and miR-185 co-contribute to ovarian cancer cells cisplatin sensitivity by targeting DNMT1 directly: a novel epigenetic therapy independent of decitabine*. Oncogene, 2013. 33: p. 378.
179. Saito, Y., et al., *Epigenetic alterations and microRNA misexpression in cancer and autoimmune diseases: a critical review*. Clinical reviews in allergy & immunology, 2014. 47(2): p. 128-135.
180. Li, D., et al., *MicroRNA-212 functions as an epigenetic-silenced tumor suppressor involving in tumor metastasis and invasion of gastric cancer through down-regulating PXN expression*. American journal of cancer research, 2015. 5(10): p. 2980-2997.
181. Hsieh, T.-H., et al., *HDAC inhibitors target HDAC5, upregulate microRNA-125a-5p, and induce apoptosis in breast cancer cells*. Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy, 2015. 23(4): p. 656-666.
182. Krützfeldt, J., et al., *Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'*. Nature, 2005. 438: p. 685.
183. Ma, L., et al., *Therapeutic silencing of miR-10b inhibits metastasis in a mouse mammary tumor model*. Nature biotechnology, 2010. 28(4): p. 341-347.
184. Wen, D., et al., *Small molecules targeting microRNA for cancer therapy: Promises and obstacles*. Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society, 2015. 219: p. 237-247.
185. Chiranjib, C., et al., *Therapeutic microRNA Delivery Strategies with Special Emphasis on Cancer Therapy and Tumorigenesis: Current Trends and Future Challenges*. Current Drug Metabolism, 2016. 17(5): p. 469-477.
186. Trang, P., et al., *Systemic delivery of tumor suppressor microRNA mimics using a neutral lipid emulsion inhibits lung tumors in mice*. Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy, 2011. 19(6): p. 1116-1122.
187. Lu, J., et al., *MicroRNA expression profiles classify human cancers*. Nature, 2005. 435: p. 834.
188. Gao, C., et al., *Reduced microRNA-218 expression is associated with high nuclear factor kappa B activation in gastric cancer*. Cancer, 2010. 116(1): p. 41-49.
189. Zhang, Z., et al., *miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression*. Laboratory Investigation, 2008. 88: p. 1358.
190. Hayashi, Y., et al., *CagA mediates epigenetic regulation to attenuate let-7 expression in Helicobacter pylori-related carcinogenesis*. Gut, 2013. 62(11): p. 1536.
191. Kong, D., et al., *Inflammation-induced repression of tumor suppressor miR-7 in gastric tumor cells*. Oncogene, 2011. 31: p. 3949.
192. Li, N., et al., *H. pylori related proinflammatory cytokines contribute to the induction of miR-146a in human gastric epithelial cells*. Molecular Biology Reports, 2012. 39(4): p. 4655-4661.
193. Tsai, K.-W., et al., *Epigenetic regulation of miR-196b expression in gastric cancer*. Genes, Chromosomes and Cancer, 2010. 49(11): p. 969-980.
194. Ando, T., et al., *DNA methylation of microRNA genes in gastric mucosae of gastric cancer patients: Its possible involvement in the formation of epigenetic field defect*. International Journal of Cancer, 2009. 124(10): p. 2367-2374.
195. Calin, G.A., et al., *Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004. 101(9): p. 2999-3004.

196. Concepcion, C.P., C. Bonetti, and A. Ventura, *The microRNA-17-92 family of microRNA clusters in development and disease*. Cancer journal (Sudbury, Mass.), 2012. 18(3): p. 262-267.
197. Bou Kheir, T., et al., *miR-449 inhibits cell proliferation and is down-regulated in gastric cancer*. Molecular cancer, 2011. 10: p. 29-29.
198. Petrocca, F., et al., *E2F1-Regulated MicroRNAs Impair TGF β -Dependent Cell-Cycle Arrest and Apoptosis in Gastric Cancer*. Cancer Cell, 2008. 13(3): p. 272-286.
199. Kim, M.S., et al., *Somatic mutations and losses of expression of microRNA regulation-related genes AGO2 and TNRC6A in gastric and colorectal cancers*. The Journal of Pathology, 2010. 221(2): p. 139-146.
200. Melo, S.A., et al., *A TARBP2 mutation in human cancer impairs microRNA processing and DICER1 function*. Nature genetics, 2009. 41(3): p. 365-370.
201. Melo, S.A., et al., *A Genetic Defect in Exportin-5 Traps Precursor MicroRNAs in the Nucleus of Cancer Cells*. Cancer Cell, 2010. 18(4): p. 303-315.
202. Mu, Y.-P., et al., *MicroRNAs May Serve as Emerging Molecular Biomarkers for Diagnosis and Prognostic Assessment or as Targets for Therapy in Gastric Cancer*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2015. 16(12): p. 4813-4820.
203. Xu, Q., et al., *A new polymorphism biomarker rs629367 associated with increased risk and poor survival of gastric cancer in chinese by up-regulated miRNA-let-7a expression*. PloS one, 2014. 9(4): p. e95249-e95249.
204. Liu, L.Y., et al., *Mir-126 inhibits growth of SGC-7901 cells by synergistically targeting the oncogenes PI3KR2 and Crk, and the tumor suppressor PLK2*. Int J Oncol, 2014. 45(3): p. 1257-1265.
205. Hu, C.-B., et al., *miR-124 Inhibits Growth and Invasion of Gastric Cancer by Targeting ROCK1*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2014. 15(16): p. 6543-6546.
206. Shen, J., et al., *MicroRNA-410 Suppresses Migration and Invasion by Targeting MDM2 in Gastric Cancer*. PLOS ONE, 2014. 9(8): p. e104510.
207. Du, Y., et al., *miR-129-1-3p Promote BGC-823 Cell Proliferation by Targeting PDCD2*. The Anatomical Record, 2014. 297(12): p. 2273-2279.
208. Duan, J.-H. and L. Fang, *RETRACTED ARTICLE: MicroRNA-92 promotes gastric cancer cell proliferation and invasion through targeting FXR*. Tumor Biology, 2014. 35(11): p. 11013-11019.
209. Li, R., et al., *MicroRNA 520d-3p inhibits gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion by downregulating EphA2 expression*. Molecular and Cellular Biochemistry, 2014. 396(1): p. 295-305.
210. Zhang, R., et al., *MicroRNA-106b~25 expressions in tumor tissues and plasma of patients with gastric cancers*. Medical Oncology, 2014. 31(10): p. 243.
211. X. Li, F.W., Y. Qi, *MiR-126 inhibits the invasion of gastric cancer cell in part by targeting Crk*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014. 18 - N. 14: p. 2031-2037.
212. Li L, Z.L., Li Y, Lin S, Tomuleasa C, *MicroRNA-21 stimulates gastric cancer growth and invasion by inhibiting the tumor suppressor effects of programmed cell death protein 4 and phosphatase and tensin homolog*. J BUON, 2014. 2014 Jan-Mar;19(1): p. 228-236.
213. Li, C.L., et al., *microRNA-155 is downregulated in gastric cancer cells and involved in cell metastasis*. Oncol Rep, 2012. 27(6): p. 1960-1966.
214. Sun, S., et al., *Downregulation of microRNA-155 accelerates cell growth and invasion by targeting c-myc in human gastric carcinoma cells*. Oncol Rep, 2014. 32(3): p. 951-956.

215. Hibino, S., et al., *Inhibitors of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) activate tumor-suppressor microRNAs in human cancer cells*. *Oncogenesis*, 2014. 3(5): p. e104-e104.
216. Zhu, E.-D., et al., *miR-30b, Down-Regulated in Gastric Cancer, Promotes Apoptosis and Suppresses Tumor Growth by Targeting Plasminogen Activator Inhibitor-1*. *PLOS ONE*, 2014. 9(8): p. e106049.
217. Wu, J.-H., et al., *MiR-421 Regulates Apoptosis of BGC-823 Gastric Cancer Cells by Targeting Caspase-3*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2014. 15(13): p. 5463-5468.
218. Xia, J.-t., et al., *MicroRNA-362 induces cell proliferation and apoptosis resistance in gastric cancer by activation of NF- κ B signaling*. *Journal of translational medicine*, 2014. 12: p. 33-33.
219. Seok, J.-K., et al., *MicroRNA-382 induced by HIF-1 α is an angiogenic miR targeting the tumor suppressor phosphatase and tensin homolog*. *Nucleic acids research*, 2014. 42(12): p. 8062-8072.
220. Zheng, L., et al., *miRNA-145 Targets v-ets Erythroblastosis Virus E26 Oncogene Homolog 1 to Suppress the Invasion, Metastasis, and Angiogenesis of Gastric Cancer Cells*. *Molecular Cancer Research*, 2013. 11(2): p. 182.
221. Gao, P., et al., *The molecular mechanism of microRNA-145 to suppress invasion–metastasis cascade in gastric cancer*. *Oncogene*, 2012. 32: p. 491.
222. Miao, L., et al., *miR-375 inhibits Helicobacter pylori-induced gastric carcinogenesis by blocking JAK2–STAT3 signaling*. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2014. 63(7): p. 699-711.
223. Tsukamoto, Y., et al., *MicroRNA-375 Is Downregulated in Gastric Carcinomas and Regulates Cell Survival by Targeting PDK1 and 14-3-3 ζ* . *Cancer Research*, 2010. 70(6): p. 2339.
224. Zhou, X., et al., *Decreased miR-204 in H. pylori-Associated Gastric Cancer Promotes Cancer Cell Proliferation and Invasion by Targeting SOX4*. *PLOS ONE*, 2014. 9(7): p. e101457.
225. Kiga, K., et al., *Epigenetic silencing of miR-210 increases the proliferation of gastric epithelium during chronic Helicobacter pylori infection*. *Nature communications*, 2014. 5: p. 4497-4497.
226. Jiping, Z., et al., *MicroRNA-212 inhibits proliferation of gastric cancer by directly repressing retinoblastoma binding protein 2*. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2013. 114(12): p. 2666-2672.
227. Jiang, B., et al., *miR-874 Inhibits cell proliferation, migration and invasion through targeting aquaporin-3 in gastric cancer*. *Journal of Gastroenterology*, 2014. 49(6): p. 1011-1025.
228. Matsuo, M., et al., *MiR-29c is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell proliferation by targeting RCC2*. *Molecular cancer*, 2013. 12: p. 15-15.
229. Wang, J., et al., *MicroRNA-610 inhibits the migration and invasion of gastric cancer cells by suppressing the expression of vasodilator-stimulated phosphoprotein*. *European Journal of Cancer*, 2012. 48(12): p. 1904-1913.
230. Guo, M.-M., et al., *miR-22 is down-regulated in gastric cancer, and its overexpression inhibits cell migration and invasion via targeting transcription factor Sp1*. *Medical Oncology*, 2013. 30(2): p. 542.
231. Chen, Q., et al., *miR-137 Is Frequently Down-Regulated in Gastric Cancer and Is a Negative Regulator of Cdc42*. *Digestive Diseases and Sciences*, 2011. 56(7): p. 2009-2016.

232. Suzuki, H., et al., *Methylation-associated silencing of microRNA-34b/c in gastric cancer and its involvement in an epigenetic field defect*. Carcinogenesis, 2010. 31(12): p. 2066-2073.
233. Shen, R., et al., *Epigenetic repression of microRNA-129-2 leads to overexpression of SOX4 in gastric cancer*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2010. 394(4): p. 1047-1052.
234. Hashimoto, Y., et al., *Involvement of epigenetically silenced microRNA-181c in gastric carcinogenesis*. Carcinogenesis, 2010. 31(5): p. 777-784.
235. Kim K, L.H., Park JL, Kim M, Kim SY, Noh SM, Song KS, Kim JC, Kim YS., *Epigenetic regulation of microRNA-10b and targeting of oncogenic MAPRE1 in gastric cancer*. Epigenetics, 2011. 2011 Jun;6(6): p. 740-751.
236. Liu, M., et al., *EB1 acts as an oncogene via activating β -catenin/TCF pathway to promote cellular growth and inhibit apoptosis*. Molecular Carcinogenesis, 2009. 48(3): p. 212-219.
237. Kim, J.-G., et al., *Epigenetically regulated MIR941 and MIR1247 target gastric cancer cell growth and migration*. Epigenetics, 2014. 9(7): p. 1018-1030.
238. Wu, H., et al., *Regulation of microtubule-associated protein tau (MAPT) by miR-34c-5p determines the chemosensitivity of gastric cancer to paclitaxel*. Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 2013. 71(5): p. 1159-1171.
239. Lei, H., et al., *MicroRNA-219-2-3p functions as a tumor suppressor in gastric cancer and is regulated by DNA methylation*. PloS one, 2013. 8(4): p. e60369-e60369.
240. Deng, H., et al., *MicroRNA-195 and microRNA-378 mediate tumor growth suppression by epigenetical regulation in gastric cancer*. Gene, 2013. 518(2): p. 351-359.
241. Qin, S., et al., *miR-19a Promotes Cell Growth and Tumorigenesis through Targeting SOCS1 in Gastric Cancer*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2013. 14(2): p. 835-840.
242. Li, T., et al., *MicroRNA-296-5p increases proliferation in gastric cancer through repression of Caudal-related homeobox 1*. Oncogene, 2013. 33: p. 783.
243. Wang, M., et al., *miR-17-5p/20a are important markers for gastric cancer and murine double minute 2 participates in their functional regulation*. European Journal of Cancer, 2013. 49(8): p. 2010-2021.
244. S Lo, P.H.H., J Chen, H-F Tu, W Fang, C. T. A. Chen, W-t Chen, N-R Gong, C Wu, *Overexpression of miR-370 and downregulation of its novel target TGF β -RII contribute to the progression of gastric carcinoma*. Oncogene, 2012. 31: p. 226-237.
245. Wang, M., et al., *Overexpressed miR-301a promotes cell proliferation and invasion by targeting RUNX3 in gastric cancer*. Journal of Gastroenterology, 2013. 48(9): p. 1023-1033.
246. Li, X., et al., *miRNA-223 Promotes Gastric Cancer Invasion and Metastasis by Targeting Tumor Suppressor EPB41L3*. Molecular Cancer Research, 2011. 9(7): p. 824.
247. Xu, L., et al., *Down-regulation of miR-212 expression by DNA hypermethylation in human gastric cancer cells*. Medical Oncology, 2011. 28(1): p. 189-196.
248. Yan, Y., L.-F. Wang, and R.-F. Wang, *Role of cancer-associated fibroblasts in invasion and metastasis of gastric cancer*. World journal of gastroenterology, 2015. 21(33): p. 9717-9726.
249. Chou, J. and Z. Werb, *MicroRNAs play a big role in regulating ovarian cancer-associated fibroblasts and the tumor microenvironment*. Cancer discovery, 2012. 2(12): p. 1078-1080.
250. Yu, S., et al., *Tumor-derived exosomes in cancer progression and treatment failure*. Oncotarget, 2015. 6(35): p. 37151-37168.

251. Li, Q., et al., *MiR-21/Smad 7 signaling determines TGF- β 1-induced CAF formation*. Scientific reports, 2013. 3: p. 2038-2038.
252. Naito, Y., Yasuno, K., Tagawa, H., Sakamoto, N., Oue, N., Yashiro, M., Sentani, K., Goto, K., Shinmei, S., Oo, H. Z., Yanagihara, K., Hirakawa, K., Yasui, W, *MicroRNA-145 is a potential prognostic factor of scirrhus type gastric cancer*. Oncology Reports, 2014. 32: p. 1720-1726.
253. Li, P., et al., *Epigenetic silencing of microRNA-149 in cancer-associated fibroblasts mediates prostaglandin E2/interleukin-6 signaling in the tumor microenvironment*. Cell research, 2015. 25(5): p. 588-603.
254. Yang, T.S., et al., *MicroRNA-106b in cancer-associated fibroblasts from gastric cancer promotes cell migration and invasion by targeting PTEN*. FEBS Lett, 2014. 588(13): p. 2162-2169.
255. Zhang, Y., et al., *Comprehensive analysis of microRNA-regulated protein interaction network reveals the tumor suppressive role of microRNA-149 in human hepatocellular carcinoma via targeting AKT-mTOR pathway*. Molecular cancer, 2014. 13: p. 253-253.
256. Chan, S.H., et al., *MicroRNA-149 targets GIT1 to suppress integrin signaling and breast cancer metastasis*. Oncogene, 2014. 33(36): p. 4496-4507.
257. Kohlhapp, F.J., et al., *MicroRNAs as mediators and communicators between cancer cells and the tumor microenvironment*. Oncogene, 2015. 34(48): p. 5857-5868.
258. Zhen, Y., et al., *Tumor suppressor PDCD4 modulates miR-184-mediated direct suppression of C-MYC and BCL2 blocking cell growth and survival in nasopharyngeal carcinoma*. Cell Death & Disease, 2013. 4: p. e872.
259. Huang, C.-S., et al., *Increased expression of miR-21 predicts poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma*. International journal of clinical and experimental pathology, 2015. 8(6): p. 7234-7238.
260. Li, B., et al., *Two-stage cyclic enzymatic amplification method for ultrasensitive electrochemical assay of microRNA-21 in the blood serum of gastric cancer patients*. Biosensors & bioelectronics, 2016. 79: p. 307-312.
261. Uozaki, H., et al., *Stromal miR-21 is more important than miR-21 of tumour cells for the progression of gastric cancer*. Histopathology, 2014. 65(6): p. 775-783.
262. Zhang, R., et al., *The effect of antisense inhibitor of miRNA 106b approximately 25 on the proliferation, invasion, migration, and apoptosis of gastric cancer cell*. Tumour Biol, 2016. 37(8): p. 10507-10515.
263. Azarbarzin, S., et al., *The Value of MiR-383, an Intronic MiRNA, as a Diagnostic and Prognostic Biomarker in Intestinal-Type Gastric Cancer*. Biochem Genet, 2017. 55(3): p. 244-252.
264. Wan, Q.-S. and K.-H. Zhang, *Noninvasive detection of gastric cancer*. Tumor Biology, 2016. 37(9): p. 11633-11643.
265. Liang, H., et al., *The origin, function, and diagnostic potential of extracellular microRNAs in human body fluids*. Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA, 2014. 5(2): p. 285-300.
266. Tsujiura, M., et al., *Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers*. British journal of cancer, 2010. 102(7): p. 1174-1179.
267. Liu, R., et al., *A five-microRNA signature identified from genome-wide serum microRNA expression profiling serves as a fingerprint for gastric cancer diagnosis*. European Journal of Cancer, 2011. 47(5): p. 784-791.
268. Liu, H., et al., *Genome-wide microRNA profiles identify miR-378 as a serum biomarker for early detection of gastric cancer*. Cancer Letters, 2012. 316(2): p. 196-203.

269. Valladares-Ayerbes, M., et al., *Circulating miR-200c as a diagnostic and prognostic biomarker for gastric cancer*. Journal of translational medicine, 2012. 10: p. 186-186.
270. Zhu, C., et al., *A five-microRNA panel in plasma was identified as potential biomarker for early detection of gastric cancer*. British journal of cancer, 2014. 110(9): p. 2291-2299.
271. Zeng, Q., et al., *Downregulation of serum miR-17 and miR-106b levels in gastric cancer and benign gastric diseases*. Chinese journal of cancer research = Chung-kuo yen cheng yen chiu, 2014. 26(6): p. 711-716.
272. Tsujiura, M., et al., *Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers*. Br J Cancer, 2010. 102(7): p. 1174-1179.
273. Wu, J., et al., *MicroRNA-421 is a new potential diagnosis biomarker with higher sensitivity and specificity than carcinoembryonic antigen and cancer antigen 125 in gastric cancer*. Biomarkers, 2015. 20(1): p. 58-63.
274. Wu, J., et al., *Circulating MicroRNA-21 Is a Potential Diagnostic Biomarker in Gastric Cancer*. Disease markers, 2015. 2015: p. 435656-435656.
275. Tsai, M.M., et al., *Circulating microRNA-196a/b are novel biomarkers associated with metastatic gastric cancer*. Eur J Cancer, 2016. 64: p. 137-148.
276. Huang, Z., et al., *Six Serum-Based miRNAs as Potential Diagnostic Biomarkers for Gastric Cancer*. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 2017. 26(2): p. 188.
277. Yan, W., et al., *Comparison of Prognostic MicroRNA Biomarkers in Blood and Tissues for Gastric Cancer*. Journal of Cancer, 2016. 7(1): p. 95-106.
278. Hu, Q., et al., *Lin28B is a novel prognostic marker in gastric adenocarcinoma*. International journal of clinical and experimental pathology, 2014. 7(8): p. 5083-5092.
279. Fu, Z., et al., *Circulating miR-222 in plasma and its potential diagnostic and prognostic value in gastric cancer*. Medical Oncology, 2014. 31(9): p. 164.
280. Zhu, M., N. Zhang, and S. He, *Similarly up-regulated microRNA-106a in matched formalin-fixed paraffin-embedded and fresh frozen samples and the dynamic changes during gastric carcinogenesis and development*. Pathology - Research and Practice, 2014. 210(12): p. 909-915.
281. Mifang, Y., et al., *miR-1271 Regulates Cisplatin Resistance of Human Gastric Cancer Cell Lines by Targeting IGF1R, IRS1, mTOR, and BCL2*. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2014. 14(6): p. 884-891.
282. Yan, W., et al., *Identification of microRNAs as potential biomarker for gastric cancer by system biological analysis*. Biomed Res Int, 2014. 2014: p. 901428.
283. Han, T.-S., et al., *MicroRNA-29c mediates initiation of gastric carcinogenesis by directly targeting ITGB1*. Gut, 2015. 64(2): p. 203-214.
284. Ren, C., et al., *Expression and prognostic value of miR-92a in patients with gastric cancer*. Tumor Biology, 2016. 37(7): p. 9483-9491.
285. Guo, B., et al., *Dysregulation of miRNAs and their potential as biomarkers for the diagnosis of gastric cancer*. Biomedical reports, 2013. 1(6): p. 907-912.
286. Tsujiura, M., et al., *Circulating miR-18a in plasma contributes to cancer detection and monitoring in patients with gastric cancer*. Gastric Cancer, 2015. 18(2): p. 271-279.
287. Zheng, G., et al., *A two-microRNA signature as a potential biomarker for early gastric cancer*. Oncology letters, 2014. 7(3): p. 679-684.
288. Shin, J.-Y., et al., *MicroRNA 135a Suppresses Lymph Node Metastasis through Down-Regulation of ROCK1 in Early Gastric Cancer*. PLOS ONE, 2014. 9(1): p. e85205.

289. Mu, Y.-P., et al., *Association of miR-193b Down-regulation and miR-196a up-Regulation with Clinicopathological Features and Prognosis in Gastric Cancer*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2014. 15(20): p. 8893-8900.
290. Xu, Y.J. and Y. Fan, *MiR-215/192 participates in gastric cancer progression*. Clinical and Translational Oncology, 2015. 17(1): p. 34-40.
291. Komatsu, S., et al., *Prognostic Impact of Circulating miR-21 in the Plasma of Patients with Gastric Carcinoma*. Anticancer Research, 2013. 33(1): p. 271-276.
292. Tan, Z., et al., *miR-185 is an independent prognosis factor and suppresses tumor metastasis in gastric cancer*. Molecular and Cellular Biochemistry, 2014. 386(1): p. 223-231.
293. Wang, W., et al., *Reduced expression of miR-22 in gastric cancer is related to clinicopathologic characteristics or patient prognosis*. Diagnostic pathology, 2013. 8: p. 102-102.
294. Yang, Q., et al., *Downregulation of microRNA-206 is a potent prognostic marker for patients with gastric cancer*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2013. 25(8): p. 953-957.
295. Li, X., et al., *Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature*. Gut, 2010. 59(5): p. 579.
296. Wu, W.-Y., et al., *Potentially predictive microRNAs of gastric cancer with metastasis to lymph node*. World journal of gastroenterology, 2011. 17(31): p. 3645-3651.
297. Zhang, X., et al., *Gastric juice microRNA-421 is a new biomarker for screening gastric cancer*. Tumor Biology, 2012. 33(6): p. 2349-2355.
298. Yu, X., et al., *Gastric juice miR-129 as a potential biomarker for screening gastric cancer*. Medical Oncology, 2013. 30(1): p. 365.
299. Cui, L., et al., *Gastric juice MicroRNAs as potential biomarkers for the screening of gastric cancer*. Cancer, 2013. 119(9): p. 1618-1626.
300. Shao J, F.P., He B, Guo LL, Shi MY, Zhu Y, Bo P and Zhen-Wen ZW, *Downregulated MicroRNA-133a in gastric juice as a clinicopathological biomarker for gastric cancer screening*. Asian Pac J Cancer Prev, 2016. 17: p. 2719-2722.
301. Ribeiro-dos-Santos, Â., et al., *Ultra-Deep Sequencing Reveals the microRNA Expression Pattern of the Human Stomach*. PLOS ONE, 2010. 5(10): p. e13205.
302. Sierzeaga, M., et al., *Evaluation of serum microRNA biomarkers for gastric cancer based on blood and tissue pools profiling: the importance of miR-21 and miR-331*. British journal of cancer, 2017. 117(2): p. 266-273.
303. Huang, K.-H., et al., *The Correlation between miRNA and Lymph Node Metastasis in Gastric Cancer*. BioMed Research International, 2015. 2015: p. 7.
304. Wang, N., et al., *A serum exosomal microRNA panel as a potential biomarker test for gastric cancer*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2017. 493(3): p. 1322-1328.
305. Tokuhisa, M., et al., *Exosomal miRNAs from Peritoneum Lavage Fluid as Potential Prognostic Biomarkers of Peritoneal Metastasis in Gastric Cancer*. PloS one, 2015. 10(7): p. e0130472-e0130472.
306. Wang, B. and Q. Zhang, *The expression and clinical significance of circulating microRNA-21 in serum of five solid tumors*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 2012. 138(10): p. 1659-1666.
307. Li, B.-s., et al., *Plasma microRNAs, miR-223, miR-21 and miR-218, as novel potential biomarkers for gastric cancer detection*. PloS one, 2012. 7(7): p. e41629-e41629.
308. Shiotani, A., et al., *Identification of serum miRNAs as novel non-invasive biomarkers for detection of high risk for early gastric cancer*. British journal of cancer, 2013. 109(9): p. 2323-2330.
309. Cai, H., et al., *Plasma microRNAs serve as novel potential biomarkers for early detection of gastric cancer*. Medical Oncology, 2013. 30(1): p. 452.

310. Chen, Q., et al., *Plasma miR-122 and miR-192 as potential novel biomarkers for the early detection of distant metastasis of gastric cancer*. *Oncol Rep*, 2014. 31(4): p. 1863-1870.
311. Shin, V.Y., et al., *A three-miRNA signature as promising non-invasive diagnostic marker for gastric cancer*. *Molecular cancer*, 2015. 14: p. 202-202.
312. Zhang WH, G.J., Wang CZ, Chang Q, Xu SP, Cai CH, Li YN, Tian YP, Yan L, Wu B., *The identification of miR-375 as a potential biomarker in distal gastric adenocarcinoma*. *Oncol Res*, 2012. 20 (4): p. 139-147.
313. Liu, X., et al., *Plasma miR-940 may serve as a novel biomarker for gastric cancer*. *Tumor Biology*, 2016. 37(3): p. 3589-3597.
314. Zheng Y, C.L., Sun W, Zhou H, Yuan X, Huo M, Chen J, Lou Y, Guo J., *MicroRNA-21 is a new marker of circulating tumor cells in gastric cancer patients*. *Cancer Biomark*, 2012. 10(2): p. 71-77.
315. Wang, M., et al., *Circulating miR-17-5p and miR-20a: molecular markers for gastric cancer*. *Mol Med Rep*, 2012. 5(6): p. 1514-1520.
316. Tsai KW, L.Y., Wu CW, Hu LY, Li SC, Chan WC, Ho MR, Lai CH, Kao HW, Fang WL, Huang KH, Lin WC., *Aberrant expression of miR-196a in gastric cancers and correlation with recurrence*. *Genes Chromosomes Cancer*, 2012. 51(4): p. 394-401.
317. Kim, S.Y., et al., *Validation of circulating miRNA biomarkers for predicting lymph node metastasis in gastric cancer*. *J Mol Diagn*, 2013. 15(5): p. 661-669.
318. Zhang, K.-C., et al., *Hemolysis-free plasma miR-214 as novel biomarker of gastric cancer and is correlated with distant metastasis*. *American journal of cancer research*, 2015. 5(2): p. 821-829.
319. Li, B.S., et al., *MicroRNA-25 promotes gastric cancer migration, invasion and proliferation by directly targeting transducer of ERBB2, 1 and correlates with poor survival*. *Oncogene*, 2014. 34: p. 2556.
320. Gorur, A., et al., *Determination of plasma microRNA for early detection of gastric cancer*. *Molecular Biology Reports*, 2013. 40(3): p. 2091-2096.
321. Wang, W.-n., et al., *The regulatory mechanism of CCR7 gene expression and its involvement in the metastasis and progression of gastric cancer*. 2013. 34(3): p. 1865-1871.
322. Xin, S.-Y., et al., *Reduced expression of circulating microRNA-218 in gastric cancer and correlation with tumor invasion and prognosis*. *World journal of gastroenterology*, 2014. 20(22): p. 6906-6911.
323. Imaoka, H., et al., *Circulating microRNA-203 predicts metastases, early recurrence, and poor prognosis in human gastric cancer*. *Gastric Cancer*, 2016. 19(3): p. 744-753.
324. Zhang, H.P., F.B. Sun, and S.J. Li *Serum miR-200c expression level as a prognostic biomarker for gastric cancer*. *Genetics and molecular research : GMR*, 2015. 14, 15913-15920 DOI: 10.4238/2015.december.7.2.
325. Song, M.-y., et al., *Identification of serum microRNAs as novel non-invasive biomarkers for early detection of gastric cancer*. *PloS one*, 2012. 7(3): p. e33608-e33608.
326. Li, C., et al., *MiRNA-199a-3p in Plasma as a Potential Diagnostic Biomarker for Gastric Cancer*. *Annals of Surgical Oncology*, 2013. 20(3): p. 397-405.
327. Su, Z.-X., et al., *Diagnostic and prognostic value of circulating miR-18a in the plasma of patients with gastric cancer*. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 2014. 35(12): p. 12119-12125.
328. Wang, H., et al., *Three dysregulated microRNAs in serum as novel biomarkers for gastric cancer screening*. *Medical Oncology*, 2014. 31(12): p. 298.

329. Zhang, J., et al., *Circulating MiR-16-5p and MiR-19b-3p as Two Novel Potential Biomarkers to Indicate Progression of Gastric Cancer*. *Theranostics*, 2015. 5(7): p. 733-745.
330. Hou, C.-G., X.-Y. Luo, and G. Li, *Diagnostic and Prognostic Value of Serum MicroRNA-206 in Patients with Gastric Cancer*. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 2016. 39(4): p. 1512-1520.
331. Wang J, Z.H., Zhou X, Wang T, Zhang J, Zhu W, Zhu H, Cheng W, *Five serum-based miRNAs were identified as potential diagnostic biomarkers in gastric cardia adenocarcinoma*. *Cancer Biomark*, 2018. 23(2): p. 193-203.
332. Hong Li, Q.W., Ting Li, Changhao Liu, Lin Xue, Jie Ding, Yongquan Shi, Daiming Fan, *The miR-17-92 cluster as a potential biomarker for the early diagnosis of gastric cancer: evidence and literature review*. *Oncotarget*, 2017. 8(28): p. 45060–45071.
333. Hao Liu, Z.Y., Jun Zhang, Xueqiang Zhu, *MicroRNA-217 in plasma: a potential biomarker in gastric cancer*. *Int J Clin Exp Med*, 2017. 10(2): p. 3313-3320.
334. Xiumei Jiang, W.W., Yongmei Yang, Lutao Du, Xiaoyun Yang, Lili Wang, Guixi Zheng, Weili Duan, Rui Wang, Xin Zhang, Lishui Wang, Xiaoyang Chen, Chuanxin Wang, *Identification of circulating microRNA signatures as potential noninvasive biomarkers for prediction and prognosis of lymph node metastasis in gastric cancer*. *Oncotarget*, 2017. 8(39): p. 65132–65142.
335. Zhuang, K., et al., *Up-Regulation of Plasma miR-23b is Associated with Poor Prognosis of Gastric Cancer*. *Medical Science Monitor*, 2016. 22: p. 356-361.
336. Zhang Y, G.D., Bi RX, Xie J, Yang CH, Jiang YH, *Prognostic value of microRNAs in gastric cancer: a meta-analysis*. *Oncotarget*, 2017. 8(33): p. 55489-55510.
337. Yuan, H.L., T. Wang, and K.H. Zhang, *MicroRNAs as potential biomarkers for diagnosis, therapy and prognosis of gastric cancer*. *Onco Targets Ther*, 2018. 11: p. 3891-3900.
338. Su, H., et al., *MicroRNA-101, Down-regulated in Hepatocellular Carcinoma, Promotes Apoptosis and Suppresses Tumorigenicity*. *Cancer Research*, 2009. 69(3): p. 1135.
339. Cao, P., et al., *MicroRNA-101 negatively regulates Ezh2 and its expression is modulated by androgen receptor and HIF-1alpha/HIF-1beta*. *Mol Cancer*, 2010. 9: p. 108.
340. Wang, H.J., et al., *MicroRNA-101 is down-regulated in gastric cancer and involved in cell migration and invasion*. *Eur J Cancer*, 2010. 46(12): p. 2295-2303.
341. Frankel, L.B., et al., *microRNA-101 is a potent inhibitor of autophagy*. *The EMBO Journal*, 2011. 30(22): p. 4628.
342. Buechner, J., et al., *Tumour-suppressor microRNAs let-7 and mir-101 target the proto-oncogene MYCN and inhibit cell proliferation in MYCN-amplified neuroblastoma*. *Br J Cancer*, 2011. 105(2): p. 296-303.
343. He, X.-P., et al., *Downregulation of miR-101 in gastric cancer correlates with cyclooxygenase-2 overexpression and tumor growth*. *The FEBS Journal*, 2012. 279(22): p. 4201-4212.
344. Strillacci, A., et al., *Loss of miR-101 expression promotes Wnt/ β -catenin signalling pathway activation and malignancy in colon cancer cells*. *The Journal of Pathology*, 2013. 229(3): p. 379-389.
345. Hu, Z., et al., *MicroRNA-101 suppresses motility of bladder cancer cells by targeting c-Met*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013. 435(1): p. 82-87.

346. Guo, F., et al., *MiR-101 suppresses the epithelial-to-mesenchymal transition by targeting ZEB1 and ZEB2 in ovarian carcinoma*. *Oncol Rep*, 2014. 31(5): p. 2021-2028.
347. Chen Lin, F.H., Guqun Shen, Adilijiang Yiming, *MicroRNA-101 regulates the viability and invasion of cervical cancer cells*. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015. 8(9): p. 10148-10155.
348. Lv, P., et al., *Micro ribonucleic acid (RNA)-101 inhibits cell proliferation and invasion of lung cancer by regulating cyclooxygenase-2*. *Thorac Cancer*, 2015. 6(6): p. 778-784.
349. Zhou, X., et al., *MiR-101 inhibits cell growth and tumorigenesis of Helicobacter pylori related gastric cancer by repression of SOCS2*. *Cancer biology & therapy*, 2015. 16(1): p. 160-169.
350. Bao, J., et al., *miR-101 alleviates chemoresistance of gastric cancer cells by targeting ANXA2*. *Biomed Pharmacother*, 2017. 92: p. 1030-1037.
351. Taisuke Imamura, S.K., Daisuke Ichikawa, Mahito Miyamae, Wataru Okajima, Takuma Ohashi, Jun Kiuchi, Keiji Nishibeppu, Toshiyuki Kosuga, Hirotaka Konishi, Atsushi Shiozaki, Kazuma Okamoto, Hitoshi Fujiwara, Eigo Otsuji, *Low plasma levels of miR-101 are associated with tumor progression in gastric cancer*. *Oncotarget*, 2017. 8(63): p. 106538–106550.
352. Dong, X. and Y. Liu, *Expression and significance of miR-24 and miR-101 in patients with advanced gastric cancer*. *Oncology letters*, 2018. 16(5): p. 5769-5774.
353. Zhang, X., et al., *Med19 is targeted by miR-101-3p/miR-422a and promotes breast cancer progression by regulating the EGFR/MEK/ERK signaling pathway*. *Cancer Lett*, 2019. 444: p. 105-115.
354. He, H., et al., *The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005. 102(52): p. 19075.
355. Xu, T., et al., *A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma*. *Carcinogenesis*, 2008. 29(11): p. 2126-2131.
356. Xu, B., et al., *A functional polymorphism in Pre-miR-146a gene is associated with prostate cancer risk and mature miR-146a expression in vivo*. *The Prostate*, 2010. 70(5): p. 467-472.
357. Shen, J., et al., *A functional polymorphism in the miR-146a gene and age of familial breast/ovarian cancer diagnosis*. *Carcinogenesis*, 2008. 29(10): p. 1963-1966.
358. Jazdzewski, K., et al., *Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008. 105(20): p. 7269.
359. Xie, W.Q. and X.F. Wang, *MiR-146a rs2910164 polymorphism increases the risk of digestive system cancer: A meta-analysis*. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2017. 41(1): p. 93-102.
360. Stenholm, L., et al., *Prognostic role of microRNA polymorphisms in advanced gastric cancer: a translational study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie (AIO)*. *Ann Oncol*, 2013. 24(10): p. 2581-2588.
361. Tchernitsa, O., et al., *Systematic evaluation of the miRNA-ome and its downstream effects on mRNA expression identifies gastric cancer progression*. *The Journal of Pathology*, 2010. 222(3): p. 310-319.
362. Kogo, R., et al., *Clinical significance of miR-146a in gastric cancer cases*. *Clinical Cancer Research*, 2011. 17(13): p. 4277.
363. Hou, Z., et al., *MicroRNA-146a is down-regulated in gastric cancer and regulates cell proliferation and apoptosis*. *Medical Oncology*, 2012. 29(2): p. 886-892.

364. Huang, K.-H., et al., *The Correlation between miRNA and Lymph Node Metastasis in Gastric Cancer* %J *BioMed Research International*. 2015. 2015: p. 7.
365. Feng, Y., et al., *Dysregulated microRNA expression profiles in gastric cancer cells with high peritoneal metastatic potential*. *Exp Ther Med*, 2018. 16(6): p. 4602-4608.
366. Shomali, N., et al., *Downregulation of miR-146a promotes cell migration in Helicobacter pylori-negative gastric cancer*. *J Cell Biochem*, 2018.
367. Juzėnas, S., et al., *Analysis of Deregulated microRNAs and Their Target Genes in Gastric Cancer*. *PloS one*, 2015. 10(7): p. e0132327-e0132327.
368. Shi, H., et al., *miR-148a suppresses cell invasion and migration in gastric cancer by targeting DNA methyltransferase 1*. *Oncol Lett*, 2018. 15(4): p. 4944-4950.
369. Shinozaki, A., et al., *Downregulation of MicroRNA-200 in EBV-Associated Gastric Carcinoma*. *Cancer Research*, 2010. 70(11): p. 4719.
370. Valladares-Ayerbes, M., et al., *Circulating miR-200c as a diagnostic and prognostic biomarker for gastric cancer*. *Journal of Translational Medicine*, 2012. 10(1): p. 186.
371. Chen, Z., et al., *Gastric adenocarcinoma has a unique microRNA signature not present in esophageal adenocarcinoma*. *Cancer*, 2013. 119(11): p. 1985-1993.
372. Zhang, H.P., F.B. Sun, and S.J. Li, *Serum miR-200c expression level as a prognostic biomarker for gastric cancer*. *Genet Mol Res*, 2015. 14(4): p. 15913-15920.
373. Chen, Z., et al., *Identification and characterization of tumor suppressor and oncogenic miRNAs in gastric cancer*. *Oncology letters*, 2015. 10(1): p. 329-336.
374. Zang, Y., et al., *miR-200a-3p promotes the proliferation of human esophageal cancer cells by post-transcriptionally regulating cytoplasmic collapsin response mediator protein-1*. *Int J Mol Med*, 2016. 38(5): p. 1558-1564.
375. Meng, F., et al., *MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer*. *Gastroenterology*, 2007. 133(2): p. 647-658.
376. Zhang, B.G., et al., *microRNA-21 promotes tumor proliferation and invasion in gastric cancer by targeting PTEN*. *Oncology reports*, 2012. 27(4): p. 1019-1026.
377. KOMATSU, S., et al., *Prognostic Impact of Circulating miR-21 in the Plasma of Patients with Gastric Carcinoma*. 2013. 33(1): p. 271-276.
378. Wang, Z., et al., *Prognostic role of microRNA-21 in gastric cancer: a meta-analysis*. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 2014. 20: p. 1668-1674.
379. Wang, D., et al., *Hsa-miR-21 and Hsa-miR-29 in Tissue as Potential Diagnostic and Prognostic Biomarkers for Gastric Cancer*. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2015. 37(4): p. 1454-1462.
380. Yao, Y., et al., *MicroRNA profiling of human gastric cancer*. *Mol Med Rep*, 2009. 2(6): p. 963-970.
381. Yao, Y.-L., et al., *Effects of MicroRNA-106 on Proliferation of Gastric Cancer Cell through Regulating p21 and E2F5*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2013. 14(5): p. 2839-2843.
382. Renshun, Y., et al., *Up-regulated Circulating miR-106a by DNA Methylation Promised a Potential Diagnostic and Prognostic Marker for Gastric Cancer*. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2016. 16(9): p. 1093-1100.
383. Li, F., et al., *The significance of elevated plasma expression of microRNA 106b~25 clusters in gastric cancer*. *PloS one*, 2017. 12(5): p. e0178427-e0178427.
384. Dong, X., et al., *BRD4 regulates cellular senescence in gastric cancer cells via E2F/miR-106b/p21 axis*. *Cell Death & Disease*, 2018. 9(2): p. 203.
385. Zhou, X., et al., *Down-regulation of miR-203 induced by Helicobacter pylori infection promotes the proliferation and invasion of gastric cancer by targeting CASK*. *Oncotarget*, 2014. 5(22): p. 11631-11640.

386. Zhang, G.-X., et al., *MiR-203 inhibits tumor invasion and metastasis in gastric cancer by ATM*. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2016. 48(8): p. 696-703.
387. Huang, C., et al., *Serum microRNA expression profile as a diagnostic panel for gastric cancer*. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 2016. 46(9): p. 811-818.
388. Zheng, Y., et al., *The expression level of miR-203 in patients with gastric cancer and its clinical significance*. *Pathology, research and practice*, 2017. 213(12): p. 1515-1518.
389. Gao Penga, W.S., Jing Fuchunc, Zhan Jiangc, Wang Yunhuic, *microRNA-203 suppresses invasion of gastric cancer cells by targeting ERK1/2/Slug/ E-cadherin signaling*. *Cancer Biomarkers*, 2017. vol. 19, no. 1: p. 11-20.
390. Wang, Z., et al., *MiR-99b-5p and miR-203a-3p Function as Tumor Suppressors by Targeting IGF-1R in Gastric Cancer*. *Scientific Reports*, 2018. 8(1): p. 10119.
391. Takeyasu Katada, H.I., Yoshiyuki Kuwabara, Masahiro Kimura, Akira Mitui, Yoichiro Mori, Ryo Ogawa, Koshiro Harata, Yoshitaka Fujii, *microRNA expression profile in undifferentiated gastric cancer*. *International Journal of Oncology*, 2009. 34: p. 537-542.
392. Park, J.-L., et al., *Cell-Free miR-27a, a Potential Diagnostic and Prognostic Biomarker for Gastric Cancer*. *Genomics & informatics*, 2015. 13(3): p. 70-75.
393. Zhou, L., et al., *MiR-27a-3p functions as an oncogene in gastric cancer by targeting BTG2*. *Oncotarget*, 2016. 7(32): p. 51943-51954.
394. Qu, Y., et al., *MiR-17-5p regulates cell proliferation and migration by targeting transforming growth factor- β receptor 2 in gastric cancer*. *Oncotarget*, 2016. 7(22): p. 33286-33296.
395. Li, H., et al., *The miR-17-92 cluster as a potential biomarker for the early diagnosis of gastric cancer: evidence and literature review*. *Oncotarget*, 2017. 8(28): p. 45060-45071.
396. Wang, Z. and F. Ji, *Downregulation of microRNA-17-5p inhibits drug resistance of gastric cancer cells partially through targeting p21*. *Oncology letters*, 2018. 15(4): p. 4585-4591.
397. Fei Liu, L.C., Jingjing Xu, Feng Guo, Weichang Chen, *miR-17-92 functions as an oncogene and modulates NF- κ B signaling by targeting TRAF3 in MGC-803 human gastric cancer cells*. *International Journal of Oncology*, 2018. 53(5): p. 2241-2257.
398. Wu, D.-M., et al., *MicroRNA-17 inhibition overcomes chemoresistance and suppresses epithelial-mesenchymal transition through a DEDD-dependent mechanism in gastric cancer*. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2018. 102: p. 59-70.
399. D'haene, B., et al., *miRNA Expression Profiling: From Reference Genes to Global Mean Normalization*, in *Next-Generation MicroRNA Expression Profiling Technology: Methods and Protocols*, J.-B. Fan, Editor. 2012, Humana Press: Totowa, NJ. p. 261-272.

ETİK KURUL ONAYI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara
	TELEFON	0312 202 69 58
	FAKS	0312 202 46 73
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Gastrik Kanseri Olgularında Serum miRNA Düzeyleri ve Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Gösterilmesi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI/UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Genel Cerrahi AD. / G.Ü.T.F.			
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji kolleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar- Uzmanlık tezi			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	13.09.2018	2	Türkçe ☒	İngilizce ☐ Diğer ☐
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	13.09.2018	2	Türkçe ☒	İngilizce ☐ Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU	☐		

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 666	Toplantı tarihi: 24.09.2018
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve “bütçesi dışında” uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Canan ULUOĞLU				
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Birol DEMİREL BAŞKAN YARD.	Adli Tıp AD.	G.Ü.T.F	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

Prof. Dr. Bulent BOYACI ÜYE	Kardiyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	VHS
Prof. Dr. Öznur L. BOYUNAĞA ÜYE	Radyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU ÜYE	Tıbbi Biyokimya A.D.	G.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Ashi KURUOĞLU ÜYE	Psikiyatri AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Hakan KAYIR ÜYE	Tıbbi Farmakoloji	COMMAT Ltd.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç. Dr. Mutlu DOĞAN ÜYE	İç Hast. AD. Tıbbi Onkoloji BD.	Ank. Numune Eğt. ve Araşt. Hast.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. N.Arda DEMİRKAN ÜYE	Genel Cerrahi AD.	A.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Katılmadı
Doç. Dr. Anıl TAPISIZ ÜYE	Çocuk Sağlığı ve Hast. AD. Ç. Nör. BD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Pınar ÖZDEMİR ÜYE	Biyoistatistik AD.	H.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	Katılmadı
Doktor Öğr. Üyesi Mustafa GÖKSU ÜYE	Hukukçu	A.H.B.V.Ü Hukuk Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Aysel ÖZER ÜYE	Sivil Temsilci	Emekli Öğr. Üyesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki

** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Adı - Soyadı: Ahmet Çağrı BÜYÜKKASAP

Ünvanı: Araştırma Görevlisi

Öğrenim durumu:

- Lisans: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi: 2006-2012
- Doktora: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ABD: 2013-2019

Projeler:

- Gastrik Kanser Olgularında Serum miRNA Düzeyleri ve Prognostik Faktörler Arasındaki İlişkinin Gösterilmesi, ARAŞTIRMA PROJESİ, Yürütücü: BEDİRLİ ABDULKADİR, Araştırmacı: GÜLBAHAR ÖZLEM, Araştırmacı: BÜYÜKKASAP AHMET ÇAĞRI, Araştırmacı: ÖNEN HACER İLKE, 01/10/2018

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

- Ganbarlı Niyazi, Dikmen Kürşat, Bostancı Hasan, Büyükkasap Ahmet Çağrı, Kerem Mustafa, Taneri Ferit (2018). The Prognostic Significance of Preoperative CA 19-9, Neutrophil / Lymphosit And Platelet / Lymphosit Ratio in Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. Journal of Pharmacology And Clinical Research, 6(4), 555692, Doi: 10.19080/JPCR.2018.06.555692
- Emral Ahmet Cihangir, Büyükkasap Ahmet Çağrı, Leventoğlu Ökkeş Sezai, Aytaç Abdulkadir Bülent, Yüksel Osman (2018). Body Mass Index and Complications Following Major Gastrointestinal Surgery: A Prospective, International Cohort Study and Meta-Analysis. Colorectal Disease, 20(8), 215-225., Doi: 10.1111/Codi.14292
- Bostancı Hasan, Dikmen Kürşat, Akyürek Nalan, Büyükkasap Ahmet Çağrı, Yavuz Aydın, Yalçın Mehmet Muhittin (2017). Eleven Patients With Primary Thyroid Lymphoma: A Single Center Experience. Turkish Journal Of Medical Sciences, 47, 1322-1327., Doi: 10.3906/Sag-1611-91