

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak  
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya  
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;  
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( YÜKSEK LİSANS TEZİ )**

**D VİTAMİNİ SERUM DÜZEYLERİ İLE D VİTAMİNİ  
METABOLİZMASINDAKİ KRİTİK GENLERE AİT  
VARYASYONLARIN BEYİN KANSERİNDE  
İNCELENMESİ**

**MURAT ÖZDEMİR**

**DANIŞMAN  
DOÇ.DR. ÖZLEM KÜÇÜKHÜSEYİN**

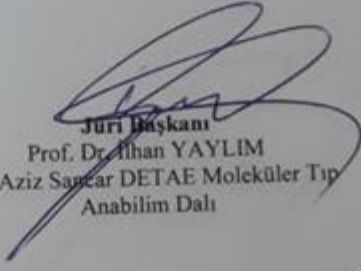
**MOLEKÜLER TIP ANA BİLİM DALI  
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

**İSTANBUL-2018**

## TEZ ONAYI

## YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İ.Ü.Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Programında Yüksek Lisans öğrencisi Murat ÖZDEMİR tarafından Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'in danışmanlığında hazırlanan "D Vitamini Serum Düzeyleri ile D Vitaminin Metabolizmasında Kritik Genlere Ait Varyasyonlarının Beyin Kanseri İncelenmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 27/08/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Jüri Başkanı  
Prof. Dr. İlhan YAYLIM  
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE Moleküler Tıp  
Anabilim Dalı

Prof. Dr. Bedia  
ÇAKMAKOĞLU

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE  
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Doç. Dr. Özlem  
KÜÇÜKHÜSEYİN

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE  
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ali Osman  
GÜROL

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE  
İmmünoloji Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Müjdat  
AYTEKİN

Haliç Üniv. Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyokimya A.D

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

**MURAT ÖZDEMİR**

## İTHAF

Bu tezi Eşim Zenep Özdemir, Oğlum Kayra Emir Özdemir ve Aileme ithaf ediyorum.

## TEŞEKKÜR

Yaklaşık bir buçuk yıl önce aramızdan ayrılan, sevgili dolu, saygı değer ve bilim aşığı olan çok değerli sevgili hocam Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Salih Tuncel Özden'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı üstlenen, bilgisini ve desteğini esirgemeyerek her konuda her zaman anlayış ve yol gösteren, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum çok değerli sevgili hocam İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Özlem Küçükhuşeyin'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince bana her zaman destek olan beni yönlendiren desteğini hiçbir zaman esirgemeyen hayatıma bir D vitamini eli uzatarak giren iyi niyetli, sevgili dolu çok kıymetli sevgili hocam İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlhan Yaylım'a,

Çalışkan, iyi kalpli sevgi dolu çok değerli hocam Prof. Dr. Hülya Yılmaz Aydoğan, Prof. Dr. Ümit Zeybek, Prof. Dr. Oğuz Öztürk ve Prof. Dr. Bedia Çakmakçoğlu, Prof. Dr. Arzu Ergen başta olmak üzere tüm hocalarıma ve araştırma görevlilerine,

Tezim için gerekli hasta örneklerinin ve bilgilerinin sağlanmasındaki katkılarından dolayı İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ali Metin Kafadar'a,

Her konuda yardımını ve desteğini esirgemeyen Msc. Mehmet Tolgahan Hakan'a, deney sürecindeki yardımlarından dolayı başta MSc. Şeyda Ercan'a ve MSc. Dilara Sönmez'e,

Yüksek lisansa başladığımız ilk günden beri anlayışı, yardımları ve destekleri için sevgili sınıf arkadaşım Bio. Şermin Durak'a,

İş hayatımda bana gösterdiği sabrı, anlayışı için ve bu eğitimimi almamda gösterdiği destek ve yardımlarından dolayı başta çok kıymetli yöneticim Uzm. Ecz.

Selma Işık ve iş yerindeki çalışma arkadaşım sevgili Uzm. Kim. Aykut Kul başta olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma ve Üsküdar Üniversitesine,

Beraber yürüdüğümüz bu yolda bana her zaman destek ve yardımcı olan, varlıklarıyla hayatıma değer katan, gerek ders aşaması gerek tez çalışmaları sürecinde özverilerini, sabırlarını, hoşgörülerini esirgemeyen ve değerli vakitlerini aldığım sevgili eşim Zeynep Özdemir'e, sevgili oğlum Kayra Emir Özdemir'e ve değerli aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2018-28203.

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	xiv
ÖZET .....	xvi
ABSTRACT.....	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. D Vitaminin Tanımı ve Genel Özellikleri .....	3
2.2. D Vitamini Metabolizması.....	4
2.2.1. D Vitaminin Fonksiyonları .....	7
2.2.2. D Vitamini Baylayıcı Protein (VDBP) .....	9
2.2.3. Vitamin D Reseptörü (VDR) .....	12
2.2.4. Vitamin D Reseptörü Gen Polimorfizmleri .....	15
2.3. D Vitamini Ölçüm Yöntemleri .....	17
2.3.1. D Vitamini Referans Aralıkları.....	18
2.4. Beyin Tümörleri ve Epidomiyolojisi .....	19
2.4.0. Beyindeki D Vitamini Varlığı ve Metabolizması .....	20
2.4.1. D vitaminin Beyindeki Fonksiyonları.....	21
2.5. D Vitamini ve Kanser .....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı .....	28
3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yerler ve Özellikleri .....	28
3.2.1. Örneklerin Toplanması .....	28
3.2.2. Yapılan Deneyler .....	28
3.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler, Kitler ve Gereçler.....	28



3.4. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar.....	29
3.4.0. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler.....	29
3.4.0.1. Agaroz Jel Yükleme Tamponu.....	29
3.4.0.2. Etidyüm Bromür.....	29
3.4.0.3. 5X Tris Borik Asit Etilendiamintetraasetat (TBE) Tamponu .....	29
3.5. Kullanılan Yöntemler.....	30
3.5.1. DNA İzolasyonu .....	30
3.5.1.1. Periferik Kandan DNA'nın İzolasyonu.....	30
3.5.1.2. İzole edilen DNA'ların Konsantrasyonun ve Kalitesinin Ölçülmesi.....	31
3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yöntemi ile Genlerin Çoğaltılması .....	32
3.5.2.1 VDR Genindeki rs: 2228570 ve rs: 731236 ile VDBP Geninde rs: 7041 Polimorfizmlerin Çoğaltılmasında kullanılan Primer dizileri Dizayn Edilmesi .....	32
3.5.2.2. PZR Karışımının Hazırlanışı.....	32
3.5.2.3. PZR Şartları.....	33
3.5.3. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi İle DNA Bantlarının Görüntülenmesi.....	34
3.5.3.1. %2'lik Agaroz Jelin Hazırlanması ve PZR Ürünlerinin Jele Yüklenmesi ...	34
3.5.4. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi) Yöntemi Kullanılarak VDR-FokI (rs: 2228570) ile VDR-TaqI (rs: 731236) ve VDBP-HaeIII (rs: 7041) Genlerine ait olan Polimorfizmlerin Tespit Edilmesi .....	35
3.5.4.1. VDR-FokI rs: 2228570 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Tespit Edilmesi .....	36
3.5.4.2. VDR-TaqI rs:731236 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Tespit Edilmesi	37
3.5.4.3. VDBP rs:7041 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Tespit Edilmesi.....	38
3.5.5. HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) Yöntemiyle Serum D Vitamini Seviyelerinin Ölçülmesi.....	40
3.5.5.1. HPLC Yöntemi için Serum Örneklerinin Hazırlanması .....	40
3.5.5.2. HPLC Sistemi.....	41
3.6. Verilerin Değerlendirilmesi .....	42
4. BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA .....	60
KAYNAKLAR .....	68
HAM VERİLER .....	78
FORMLAR .....	85

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU .....	87
GÖNÜLLÜ ONAY FORMU .....	90
ETİK KURUL KARARI .....	91
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	94
ÖZGEÇMİŞ .....	95



## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 VDBP'nin fenotipik allelerine göre nükleotit ve amino asit değişimleri. ....	12
Tablo 2.2 Sık rastlanan VDBP varyantlarının kandaki seviyeleri ile 25-(OH)D <sub>3</sub> 'ü kendine bağlama ilgilerinin karşılaştırılması. ....	12
Tablo 2.3 1,25-(OH) <sub>2</sub> D'nin sinir sistemine ait dokular üzerinde moleküler ve hücrenel etkileri (89). ....	22
Tablo 3.1 PZR işleminde kullanılacak primerler .....	32
Tablo 3.2 VDR rs: 2228570 ile rs: 731236 ve VDBP rs: 7041 polimorfizmlerinin PZR Karışımlarının hazırlanışı .....	32
Tablo 3.3 VDR rs: 2228570 ve rs: 731236 polimorfizmleri için PZR işleminde uygulanan protokol .....	33
Tablo 3.4 VDBP rs: 7041 Polimorfizmi için PZR işleminde uygulanan protokol.....	34
Tablo 3.5 FokI restriksiyon kesim enzimi için hazırlanan çözelti .....	36
Tablo 3.6 TaqI restriksiyon kesim enzimi için hazırlanan çözelti .....	37
Tablo 3.7 HaeIII restriksiyon kesim enzimi için hazırlanan çözelti .....	39
Tablo 3.8 25-OH Vitamin D <sub>3</sub> /D <sub>2</sub> ölçümünün HPLC Şartları .....	41
Tablo 4.1 Restriksiyon Kesim Enzimi İle Geneotipin Tespit Edilmesi.....	45
Tablo 4.2 Çalışma gruplarının karakteristik özellikleri .....	48
Tablo 4.3. Gruplar arasında VDR-FokI polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı .....	49
Tablo 4.4 Gruplar arasında VDR-TaqI polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı .....	50
Tablo 4.5 Gruplar arasında VDBP rs:7041 polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı .....	51
Tablo 4.6 Tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon üzerine VDR-FokI polimorfizmine ait genotip dağılımı .....	52
Tablo 4.7 Tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon üzerine VDR-TaqI polimorfizmine ait genotip dağılımı .....	53

Tablo 4.8 Tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon üzerine VDBP rs:7041 polimorfizmine ait genotip dağılımı .....	54
Tablo 4.9 Meningiom hastalarında tümörün seviyesi, tümörün yeri üzerine VDR-FokI polimorfizmine ait genotip dağılımı .....	55
Tablo 4.10 Meningiom hastalarında tümörün seviyesi, tümörün yeri üzerine VDR-TaqI polimorfizmine ait genotip dağılımı .....	56
Tablo 4.11 Meningiom hastalarında tümörün seviyesi, tümörün yeri üzerine VDBP rs:7041 polimorfizmine ait genotip dağılımı .....	57
Tablo 4.12 Çalışma gruplarının serumdaki ortalama 25-(OH)D düzeyleri .....	58
Tablo 4.13 VDR-FokI, VDR-TaqI ve VDBP rs: 7041 polimorfizmlerine ait genotip ..	59

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Vitamin D2 ve D3'ün kimyasal yapısı .....	4
Şekil 2.2. D Vitamini metabolizması.....	6
Şekil 2.3. Kalsitriol'ün endokrin, parakrin, otokrin fonsiyonları .....	8
Şekil 2.4. D Vitamini bağlayan Protein (VDBP) gen lokusu. ....	10
Şekil 2.5. Şekil 5: VDBP proteinini.....	11
Şekil 2.6. VDR'nin yapısı.....	13
Şekil 2.7. D vitamininin hedef hücrelerde VDR yoluyla transkripsiyon üzerine etkileri. .....	15
Şekil 2.8. VDR geni polimorfik bölgelerinin şematik gösterimi.....	16
Şekil 2.9. VDR gen polimorfizmlerinin lokalizasyonu. ....	17
Şekil 2.10. Beyinde D vitamini metabolizması. ....	21
Şekil 2.11. Beyindeki muhtemel D vitamini sinyal yolu .....	25
Şekil 3.1. FokI enzime ait restriksiyon bölgesi.....	36
Şekil 3.2. FokI restriksiyon kesim enzime ait DNA bantları.....	37
Şekil 3.3. TaqI enzime ait restriksiyon bölgesi.....	37
Şekil 3.4. TaqI restriksiyon kesim enzime ait DNA bantları.....	38
Şekil 3.5. HaeIII enzime ait restriksiyon bölgesi.....	38
Şekil 3.6. HaeIII restriksiyon kesim enzime ait DNA bantları.....	39
Şekil 3.7. 25-OH-Vitamin D <sub>3</sub> /D <sub>2</sub> ölçümüne ait elde edilen kromatogram .....	41
Şekil 4.1. VDR genine ait rs: 2228570 PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	43
Şekil 4.2. VDR genine ait rs: 731236 PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	44
Şekil 4.3. VDBP genine ait rs: 7041 PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. .....	44
Şekil 4.4. VDR genine ait rs: 2228570 PZR-RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	46
Şekil 4.5. VDR genine ait rs: 731236 PZR-RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	46

Şekil 4.6. VDBP genine ait rs: 7041 PZR-RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü ..... 47



## SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AFM:	Albumin-atamin
AFP:	Alfa-fetoprotein
ALB:	Albumin
cDNA:	Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit
DNA:	Deoksiribonükleik asit
ELISA:	Enzim bağlı immunoassay
FGF-23:	Fibroblast büyüme faktörü
GDNF:	Glial kökenli nörotrofik faktör
HATs:	Histon asetil transferazlar
HPLC:	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
hnRNA:	Hetero nükleer ribonükleik asit
IL-4:	İnterlökin-4
iNOS:	İndüklenebilir nitrit oksit sentaz
LIF:	Lösemi inhibitör faktörü
LVSCC:	L-tipi voltaj duyarlı kalsiyum kanalı
MAF:	Makrofaj aktive edici faktör
M-CSF:	Makrofaj koloni uyarıcı faktör
mRNA:	Mesajcı ribonükleik asit
NGF:	Sinir büyüme faktörü
NT-3:	Nörotrofin-3
NT-4:	Nörotrofin-4
PTH:	Paratroid hormon
RANKL:	Nükleer faktör kappa B ligandı
RIA:	Radyoimmunoassay
RNA:	Ribonükleik asit
RXR:	Retinoik asit X reseptörü
SNP:	Tek nükleotid polimorfizmi
TNF- $\alpha$ :	Tümör nekroz faktör alfa

TGF- $\beta$ :	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
VDBP:	D vitamini bağlanma proteini
VDR:	D vitamini reseptörü
VDREs:	D vitamini yanıt elementleri





## ÖZET

Özdemir M (2018). D Vitamini Serum Düzeyleri İle D Vitamini Metabolizmasındaki Kritik Genlere Ait Varyasyonların Beyin Kanserinde İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Beyin tümörleri tüm dünyada görülen kanserlerin %1,4 ünü oluştururken kansere bağlı ölümlerin %2,4 ünü oluşturmaktadır. Primer beyin tümörleri, patolojik mekanizmaları halen tam olarak anlaşılamayan çok heterojen bir hastalık grubudur. Genetik faktörlerin beyin tümörlerinin gelişimine katkısı tam olarak anlaşılamamıştır. Genetik risk faktörlerini anlamak, en uygun kanser tedavisini seçmede çok önemlidir. Son yıllarda yapılan mikronutrient alımı ile kanser gelişimi arasındaki ilişkinin belirlenmesine yönelik çalışmalar, D vitamini ile metabolitlerinin kanser hücrelerinde direkt olarak proliferatif kapasiteyi bozabileceği ve bu şekilde anti-kanser ve toksik etki gösterebileceğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte kanser türünün ve D vitamini reseptörlerindeki varyasyonların hastalığın gelişimini ve ilerleyişini etkileyebileceği de bildirilmiştir. D vitamini etkisini reseptörü aracılığı ile göstermekte olup yapılan çalışmalarda D vitamini reseptöründeki (VDR) polimorfizmlerin çeşitli kanser türlerinin patogenezinde de rolleri olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte, VDBP ve albumin düzeylerinin D vitamin düzeyini etkilediği biliniyor. Yapılan birçok çalışmada D vitamini düzeyleri ile metabolizmasındaki bozuklukların hücre homeostazını ve büyümesini etkileyerek çeşitli hastalıkların patogenezinde katkıda bulunabileceği gösterilmiş ve D vitamini düzeyinin metabolik hastalıklardan, kardiyovasküler, psikiyatrik bozukluklara, sinirsel hastalıklarda bazı kanser türleriyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda beyin kanseri hastalarında D vitamini düzeylerini ve çeşitli kanser türlerinde sınırlı ve çelişkili sonuçları bildirilen VDR genindeki FokI rs2228570, TaqI rs731236 polimorfizmleri ile daha önce ülkemizde hiç çalışılmamış olan VDBP genindeki rs7041 polimorfizmini inceleyerek hastalık gelişimi ve patogenezi üzerindeki etkilerini araştırmayı hedefledik. Çalışma kapsamında, beyin kanseri tanısı konulmuş hastalar ile sağlıklı kontrollerin VDR ve VDBP gen polimorfizmleri polimeraz zicir reaksiyonu – restriksiyon uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemiyle, D vitamini düzeyleri ise HPLC yöntemiyle ölçülmüştür. D vitamin düzeyi, VDR-FokI, VDR-TaqI ve VDBP rs7041 polimorfizmleri ile yapılan deneylerde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir. Literatürde, VDR rs2228570 ve rs731236 ile VDBP rs7041 polimorfizmleri ile serum D vitamini düzeylerinin beyin tümörleri ile ilişkisini araştıran sınırlı ve çelişkili sonuçlar olduğundan, çalışmamızın Türk toplumundaki beyin kanserli hastalarda D vitamini düzeyleri ve VDR ile VDBP polimorfizmlerinin dağılımının incelenmesi açısından literatüre katkı sağlayacağı ve sonraki çalışmalara ışık tutacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler : Beyin Kanseri, Vitamin D, VDR ve VDBP Polimorfizmleri

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2018-28203.



## ABSTRACT

Özdemir M. (2018). Investigation of Critical Genetic Variations of Vitamin D Metabolism and Vitamin D Serum Levels in Brain Cancer. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Molecular Medicine. Master's of Science Thesis. Istanbul.

Brain tumours constitute 1.4 % of all cancer types and 2.4 % among cancer related deaths. Primary brain tumours are very heterogeneous disease and pathological mechanisms of these tumours are still not fully understood. In addition, the contribution of genetic factors to the development of brain tumours remains still unexplained. To choose the best appropriate cancer treatment, it is important to understand the genetic risk factors. Recent studies to determine the relationship between micronutrient uptake and cancer development have shown that vitamin D and its metabolites may impair the proliferative capacity of cancer cells, thus exhibit an anti-cancer effect. However, it has also been reported that cancer type and variations of vitamin D receptors may trigger the disease development and progression. Vitamin D shows its own effect through its receptor, and studies have shown that vitamin D polymorphisms of vitamin D receptor (VDR) may play pivotal role in the pathogenesis of various cancer types. Also, it is known that VDBP and albumin levels effect vitamin D levels. In many studies, it has been shown that vitamin D levels and metabolism disorders may contribute to the pathogenesis of various diseases by effecting the cell homeostasis and growth. Vitamin D levels were found to be associated with metabolic impairment, cardiovascular, psychiatric disorders and in some cancer types of neurological disorders. In our study, we aimed to investigate the disease progression and effects of pathogenesis in brain cancer patients by determining the vitamin D levels, VDR FokI rs2228570 and TaqI rs731236 and VDBP rs7041 polymorphisms. VDR and VDBP gene polymorphisms of brain cancer -diagnosed patients and healthy controls were genotyped by polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and vitamin D levels were measured with HPLC method. Vitamin D levels, VDR-FokI, VDR-TaqI and VDBP rs7041 polymorphisms were not found to be statistically significant in experiments completed with patients and control groups. Due to the limited number and conflicting results of VDR polymorphisms rs2228570, rs731236 and VDBP polymorphism rs7041 and serum vitamin D levels in relation to patients with brain cancer in the literature, we think our study will contribute to the literature in Turkish society, and will be holding light for the next studies.

**Key Words:** Brain Cancer, Vitamin D, VDR and VDBP Polymorphisms

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. TYL-2018-28203.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

D vitamini ile kanser arasındaki ilişkiyi ilk defa Garland 1980 yılında Kuzey Amerika'da kolon kanseri görülme sıklığının Güney Amerika'ya oranla daha yüksek olduğunu tespit etmesiyle öne sürmüştü ve bu durumu gün ışığı - D vitamini üretimi ilişkisiyle açıklamıştır. Daha sonra kolon kanseri ile gün ışığı arasındaki "gün ışığı" hipotezi 18 farklı kanser türü ile genişletilmiştir. Bazı popülasyon çalışmaları, düşük 25-(OH)D<sub>3</sub> serum düzeylerinin prostat, meme ve kolon kanser risklerini arttırdığını göstermektedir. Benzer şekilde yapılan bir çok hayvan deneylerinde de düşük D vitamini düzeyleri ile D vitamini reseptörüne (VDR) ait gen delesyonlarının kanser riskini arttırdığı buna karşın 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> vitamini enjekte edilen hayvanlarda tümörlü hücrenin çapının ve insidansının düşmüş olduğu gösterilmiştir (1, 2).

Beyin tümörleri tüm dünyada görülen kanserlerin %1,8'ini oluştururken kansere bağlı ölümlerin %2,3'ünü oluşturmaktadır (3). Primer beyin tümörleri, patolojik mekanizmaları kesin olarak bilinmeyen çok heterojen bir hastalık grubudur. Bununla beraber, genetik faktörlerin beyin tümörlerinin gelişimine katkısı da tam olarak anlaşılamamıştır. Günümüzde gerek kalıtsal gerekse hastalık riski açısından genetik faktörlerin belirlenmesinin, hastalar için en uygun kanser tedavisinin seçilmesindeki önemi yapılan birçok çalışmada bildirilmektedir (4, 5). Son yıllarda yapılan mikronutrient alımı ile kanser gelişimi arasındaki ilişkinin belirlenmesine yönelik çalışmalar, D vitamini ile metabolitlerinin kanser hücrelerinde direk olarak proliferatif kapasiteyi bozabileceği ve bu şekilde anti-kanser ve toksik etki gösterebileceğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte kanser türünün ve D vitamini reseptörlerindeki varyasyonların hastalığın gelişimini ve ilerleyişini etkileyebileceği de bildirilmiştir. D vitamini etkisini reseptörü aracılığı ile göstermekte olup, yapılan çalışmalarda D vitamini reseptöründeki (VDR) polimorfizmlerin çeşitli kanser türlerinin patogenezinde rolleri olabileceği gösterilmiştir (6). Beslenme yoluyla bağırsaklardan emilen steroid yapıdaki D vitamini, D bağlayıcı protein (VDBP) ile önce karaciğere taşınarak C-25 bölgesinden hidrosillenir ve kandaki majör D vitamini formu olan 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub> [25-(OH)D<sub>3</sub>]'ü oluşturur. Ardından böbreklere taşınarak C-1 bölgesinden de hidrosillenir ve aktif form olan 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>'e (1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) dönüşür (7). VDR'ye bağlanarak etki gösteren form 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> olmasına rağmen daha stabil

olması sebebiyle D vitamini durumunu değerlendirmek için serumda 25-(OH)D<sub>3</sub> düzeyleri ölçülmektedir. Bununla birlikte, VDBP ve albumin düzeylerinin serum 25-(OH)D<sub>3</sub> düzeyini etkilediği ilk olarak Bikle ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (8). Yapılan birçok çalışmada, D vitamini düzeyleri ile metabolizmasındaki bozuklukların hücre homeostazını ve büyümesini etkileyerek çeşitli hastalıkların patogenezinde katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (6, 9). Çalışmamızda beyin kanserli hastalarda 25-(OH)D<sub>3</sub> düzeylerini ve çeşitli kanser türlerinde sınırlı ve çelişkili sonuçları bildirilen VDR genindeki FokI rs2228570, TaqI rs731236 polimorfizmleri ile daha önce ülkemizde hiç çalışılmamış olan VDBP genindeki rs7041 polimorfizmini inceleyerek hastalık gelişimi ve patogenezi üzerindeki etkilerini araştırmayı hedefledik. Çalışma kapsamında, beyin kanseri tanısı konulmuş hastalar ile sağlıklı kontrollerin VDR ve VDBP gen polimorfizmlerini polimeraz zicir reaksiyonu – restriksiyon uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemiyle, D vitamini düzeylerini ise yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC) yöntemiyle belirleyip elde edilen sonuçları demografik parametrelerle karşılaştırarak, VDR ve VDBP'ye ait polimorfizmler ile D vitamini düzeyinin beyin karsinogenezinde risk etmeni olarak kabul edilip/edilemeyeceğini belirlemeyi amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. D Vitaminin Tanımı ve Genel Özellikleri

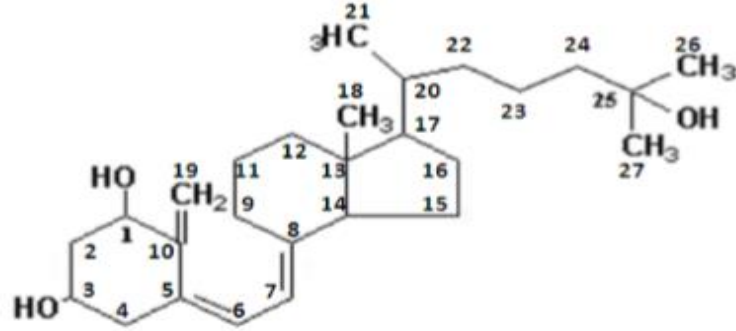
D vitamini, A, E ve K vitamini gibi yağda eriyen vitamin ailesinin bir üyesidir. Vitaminler ekzojen olarak besinlerle ya da direkt alınmasına rağmen, endojen aktif D vitamini sentezinin iki farklı dokuda gerçekleşmesi, hedef dokuya etki etmek amacıyla sistemik dolaşıma katılması ve dolaşımdaki miktarının geri-bildirim (feedback) mekanizmaları ile düzenlenmesi nedeniyle, vitaminden ziyade steroid hormon olarak görev yapmaktadır (10).

Vitamin D<sub>3</sub> (kolekalsiferol) ve vitamin D<sub>2</sub> (ergokalsiferol) D vitaminin 37 farklı metaboliti arasından en iyi bilinen iki formudur (11). D vitamini bir siklopentanoperhidrofenentren türevi olup halka sistemindeki dörtlü halka yapısının (A-D) B halkasının beşinci ve altıncı karbon atomları (C5-C6) ile yedinci ve sekizinci (C7-C8) karbon atomları arasında 2 tane çift bağ vardır ve dokuzuncu ve onuncu karbon atomları (C9-C10) arasındaki bağ açılmıştır. A, C ve D halkalarındaki karbon atomları ise doymuş durumdadır. Vitamin D<sub>3</sub>'de (kolekalsiferol) 17. karbon atomuna bağlı olan yan zincirdeki karbon atom sayısı 8 iken, vitamin D<sub>2</sub>'ye (ergokalsiferol) bağlı olan yan zincirdeki karbon atom sayısı 9'dur ve kolekalsiferolün yan grubu tamamen doymuşken ergokalsiferolün yan grubunda 1 tane doymamış çift bağ vardır. Bununla birlikte, vitamin D<sub>2</sub> molekülünün 25. karbon atomunda vitamin D<sub>3</sub> den farklı olarak bir tane metil grubu vardır (12) (Şekil 2.1).

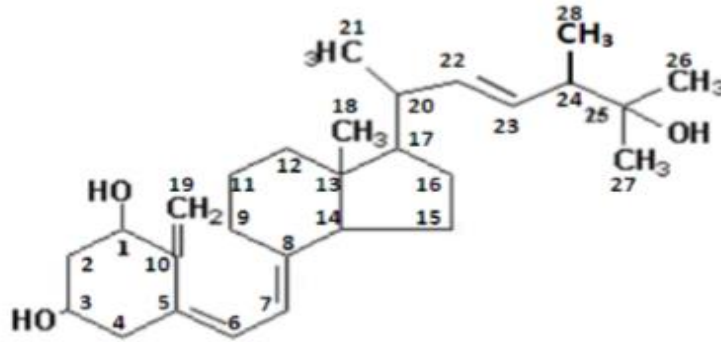
Sonuçta, vitamin D<sub>3</sub> üç tane çift bağ içerirken vitamin D<sub>2</sub> dört tane çift bağ içerir, dolayısıyla da her iki molekülün erime noktaları sırasıyla, 83-85 °C ile 114-121 °C' dir. Buna ek olarak, her iki molekülün moleküler UV absorpsiyonu ve çözünürlükleri aynı olmakla birlikte (11) D vitamini ışık ve ısıya karşı duyarlı bir moleküldür.

Vitamin D<sub>3</sub> balık, karaciğer, yumurta sarısı hayvansal besinlerden; vitamin D<sub>2</sub> ise mantar, maydonoz, yulaf gibi bitkisel besinlerden alınabilmektedir. D vitamini diyet ile alınabildiği gibi endojen olarakta sentezlenmektedir. İnsanlar D vitamininin %80-90 kadarını kendi vücutlarında endojen olarak güneş ışığı yardımı ile deride sentezlerken,

%10-20 kadarını da diyetle besinlerden karşılamaktadır. Vücudun D vitamini ihtiyacının büyük çoğunluğunu vücut endojen olarak kendi yapmaktadır. Yapılan araştırmalarda, vitamin D<sub>3</sub>'ün Vitamin D<sub>2</sub>'ye göre insan vücudunda daha etkili olduğu ve bu etkisinin daha uzun sürdüğü belirtilmiştir (13).



C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub> ,kolekalsiferol, vitamin D<sub>3</sub>



C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub> ergokalsiferol , vitamin D<sub>2</sub>

Şekil 2.1. Vitamin D<sub>2</sub> ve D<sub>3</sub>'ün kimyasal yapısı

## 2.2. D Vitamini Metabolizması

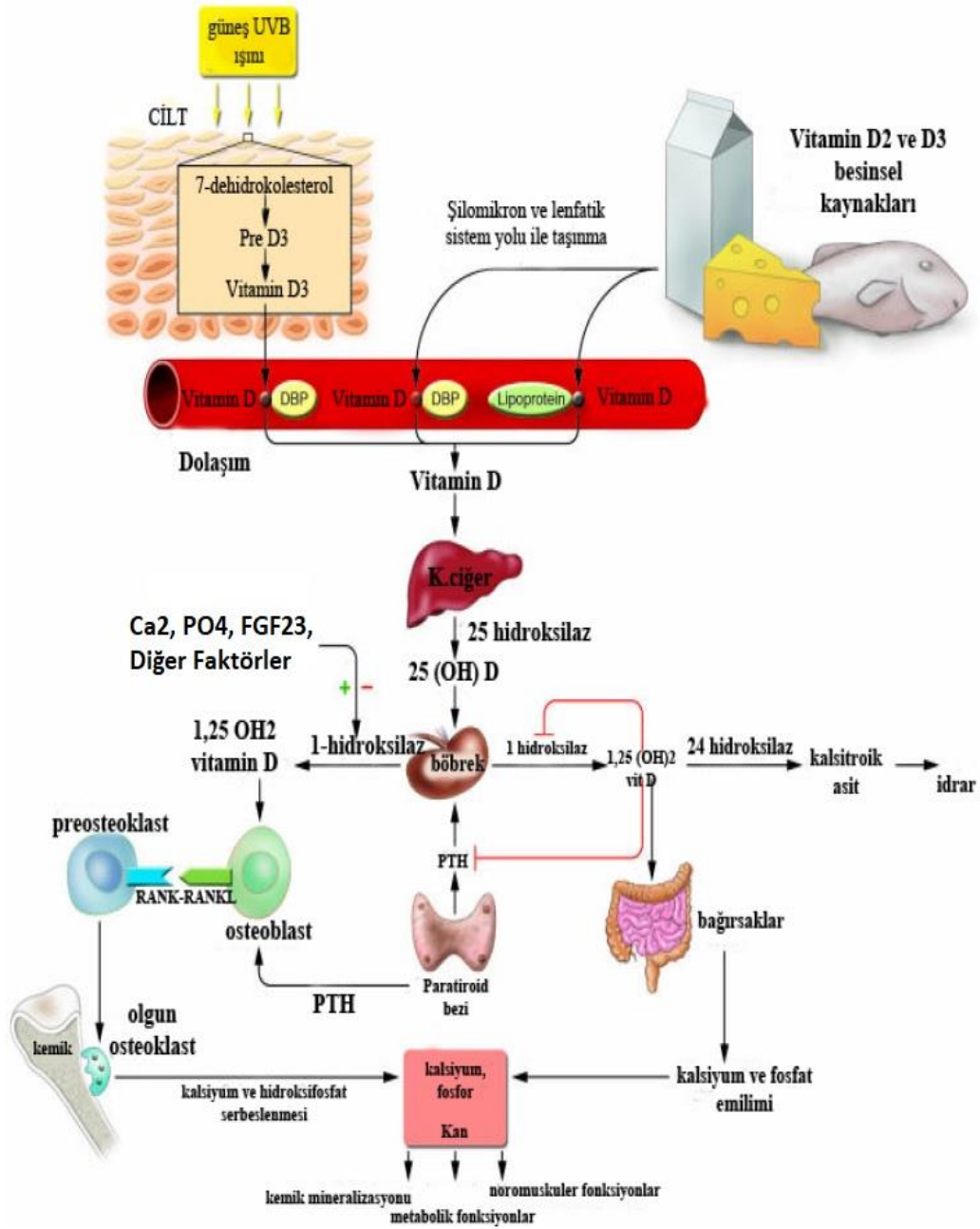
D vitamini, steroid omurgasında kırık bir zincir taşıyan sekosteroid olarak bilinen bir hormondur. İnsan vücudunun ihtiyacı olan D vitamininin %90-95'i güneş ışığında bulunan 290-315 nm dalga boyundaki ultraviyole-B (UV-B) ışınlarının yardımıyla deride sentezlenir (14). Deride endojen olarak sentezlenen D vitamininin

yüzde seksenini derininin epidermis tabakasında geriye kalan yüzde yirmisini dermis tabakasında sentezlenir (15). Endojen olarak güneş ışığı yardımıyla D vitamini sentezlenmesinde, ülkenin bulunduğu enlem, güneş ışınlarının yeryüzüne geliş açısı (zenith açısı) mevsimler, hava kirliliği, deri pigmentasyonu, deriye sürülen koruyucu kremler ve kıyafet tipi gibi faktörler etkilidir (16). Deride bulunan 7-dehidrokolestrol molekülünün C-9 ile C-10 atomları arasındaki karbon bağlarının yıkılması sonucu pre-vitamin D<sub>3</sub> oluşur. Bu molekülün 48 saat içinde gerçekleşen molekül içi (intra-moleküler) düzenlenme tepkimeleri sonucu vitamin D<sub>3</sub> sentezlenir (17). Dışarıdan diyetle alınan hayvansal besinlerden D<sub>3</sub>, bitkisel besinlerden D<sub>2</sub> vitamini duodenumdan ve jejunumdan emilir. D vitaminin yağda eriyen bir vitamin olması nedeniyle bağırsaktaki emilimi safra ile artar. Bağırsakta emilen D vitaminleri lümendeki lipidlerle beraber lenfatik kanal yoluyla dolaşıma katılarak karaciğer tarafından hızla alınır ve depolanırlar. Diyetle alınan veya deride sentezlenen D vitaminleri, D vitamini bağlayıcı protein (Vitamin D Binding Protein, VDBP)'e bağlanarak kanda taşınır (18). Hem endojen olarak sentezlenmiş olan D<sub>3</sub> vitamini hem de ekzojen olarak dışarıdan alınan D<sub>3</sub> ve D<sub>2</sub> vitaminleri, karaciğerdeki hepatosit mikrozomlarında bulunan sitokrom p450 ailesine ait CYP27A1, CYP3A4, CYP2R1, CYP2J3 gibi 25-hidroksilaz enzimleri ile 25. karbon atomlarından (C-25) hidroksillenerek 25-hidroksi vitamin D [25-(OH)D]<sub>3</sub>'ye dönüşür. D<sub>3</sub> vitaminin hidroksillemesi ile 25-(OH)D<sub>3</sub> (hidroksikolekalsiferol), D<sub>2</sub> vitaminin hidroksillenmesi ile 25-(OH)D<sub>2</sub> (hidroksiergokalsiferol) oluşur (19).

Plazmadaki 25-(OH)D düzeyi negatif geri bildirim (feed-back) mekanizması ile sabit tutulmaktadır. Vitamin D metabolizması şekil 2.2'de şekilsel olarak gösterilmiştir. Karaciğer tarafından üretilen 25-(OH)D biyolojik olarak inaktif form olup plazmadaki miktarı ise biyolojik aktif formu olan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> den yaklaşık 1000 kat daha fazladır. 25-(OH)D yarılanma ömrü 4-6 hafta olması nedeniyle stabil bir molekül olup vücutta D vitamini deposu olarak bilinir. Karaciğer tarafından üretilmiş olan 25-(OH)D VDBP'ye bağlanarak böbreğe gelir. Böbrekteki proksimal tübül hücrelerinin membranında bulunan megaline bağlanarak 25-(OH)D hücre içine alınır (20). Hücre içinde serbest olan 25-(OH)D mitokondride 1-alfa hidroksilaz (CYP27B1) enzimi ile C-1 bölgesinden ikinci bir hidroksilasyon tepkimesi ile biyolojik aktif formu olan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'e dönüşür (7). 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 'nin yarı ömrü 6-8 saattir. 1-alfa hidroksilaz enzimi, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> sentezindeki hız kısıtlayıcı enzimdir ve böbrekteki 1-alfa hidroksilaz enzimi



kalsiyum, fosfor, paratiroid hormon (PTH), fibroblast growth faktör-23 (FGF-23) ile kontrol edilir (17).



Şekil 2.2. D Vitamini metabolizması.

Vücutta karaciğerde depo edilen D vitamini düzeyinin kısa sürede düzenlenmesi ve kontrol altında tutulması 1-alfa hidroksilaz enzimi ile 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün arasındaki negatif geri bildirim mekanizması sayesinde gerçekleşir.

PTH'nin, kandaki kalsiyum ve fosfor miktarının azalmasına bağılı olarak veya direkt olarak böbrekdeki 1-alfa hidroksilaz enzimini uyarması, kandaki 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> düzeylerinin artmasına neden olur (21). Bununla birlikte, dolaşımdaki yüksek kalsiyum ve fosfor seviyeleri kemik hücrelerinden osteosit ve osteoblastlardan FGF-23 salgılanmasına yol açar. Kemikten salgılanan FGF-23, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün katabolizmasından sorumlu olan 24-hidroksilaz (CYP24A1) enzimini aktive ederek 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ü inaktif metabolitlerine dönüştürür (22). Benzer şekilde, kanda belirli bir düzeyde bulunan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün bu düzeyin üzerine çıkması durumunda aktif D vitamini metabolitinin öncülü olan 25-(OH)D, 24-hidroksilaz enzimi tarafından inaktif metabolit olan 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'e dönüştürülerek 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> düzeyi düzenlenir (23).

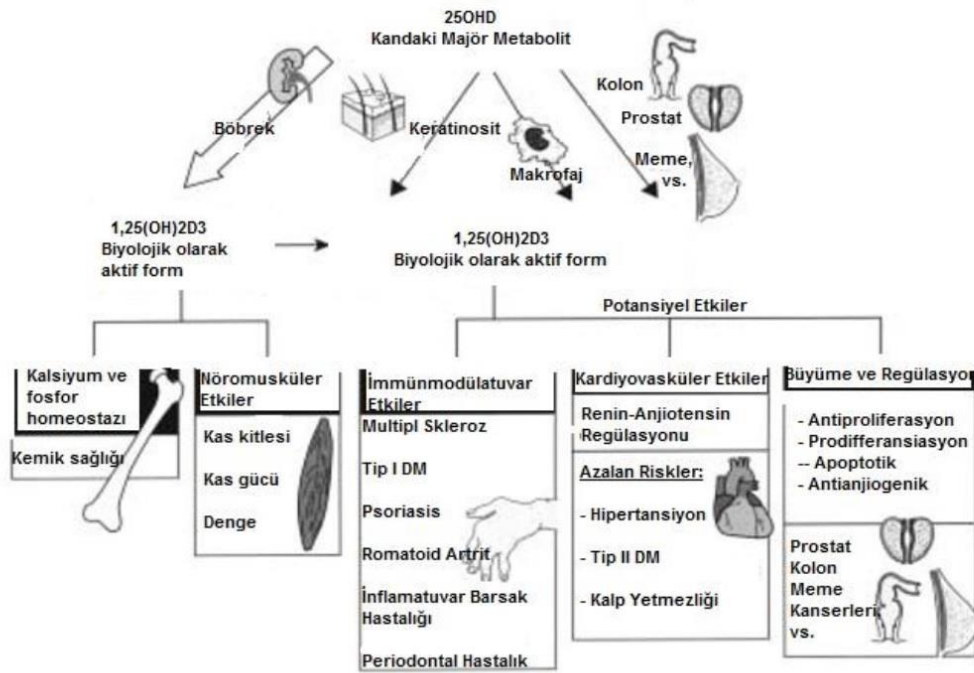
D vitamini katabolik enzimi olan 24-hidroksilaz enzimi, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ü inaktif metabolitleri olan 1,24,25-(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub> ile kalsitroik asite dönüştürür ve 25-(OH)D'yi de 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'e dönüştürerek D vitaminin katabolizmasından sorumludur (7). Bir çok hücre ve çeşitli doku tiplerinde 1-alfa hidroksilaz enziminin varlığı gösterilmişse de dolaşımdaki 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün üretiminden temel olarak böbrekler sorumludur (24). Bununla birlikte, kronik böbrek yetmezliği, gebelik, tüberküloz, sarkoidoz gibi durumlarda dolaşımdaki 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> düzeyine böbrek dışındaki 1-alfa hidroksilazların katkısı olmaktadır (25).

### 2.2.1. D Vitaminin Fonksiyonları

D vitamini etkisini, biyolojik aktif formu olan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün D vitamini reseptörüne (VDR) bağlanarak gösterir. VDR'nin D vitamini metabolitlerinden 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> molekülüne bağlanma ilgisi diğerlerine göre üç kat daha fazladır. Nükleer reseptör ailesinden olan VDR'ye 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün bağlanması ile D vitamini kontrolündeki kemik metabolizması, kalsiyum hemostazı, hücre döngüsü, bağışıklık sistemi ve diğer hormonal sistemler ile ilişkili genlerin transkripsiyon ve translasyonları düzenlenmektedir. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün enterosit diferansiasyonu ve barsakta kalsiyum emilimi üzerine önemli etkisi vardır. Bununla birlikte 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, PTH sekresyonunu baskılamak, barsakta fosfat emilimini arttırmak, osteoblast fonksiyonunu ve kemik rezorpsiyonunu düzenleyerek normal plazma kalsiyum ve fosfat düzeylerini sağlamak gibi önemli rollere sahiptir (26).

D vitamini reseptörü beyin, hipofiz, tiroid, prostat bezi, osteoblastlar, mononükleer hücreler, lenfositler, kolon, kalp kası, meme, karaciğer, böbrek, deri, gonadlar ve pankreas adacık hücreleri gibi birçok dokuda bulunur (25).

Tüm vücutta VDR'nin aktivasyonunda ve inhibisyonunda anahtar rol oynayan enzimlerin yaygın olarak bulunması, D vitaminin bir çok hücrede fonksiyonda rol aldığını gösterir (27).



**Şekil 2.3.** Kalsitriol'ün endokrin, parakrin, otokrin fonksiyonları (28).

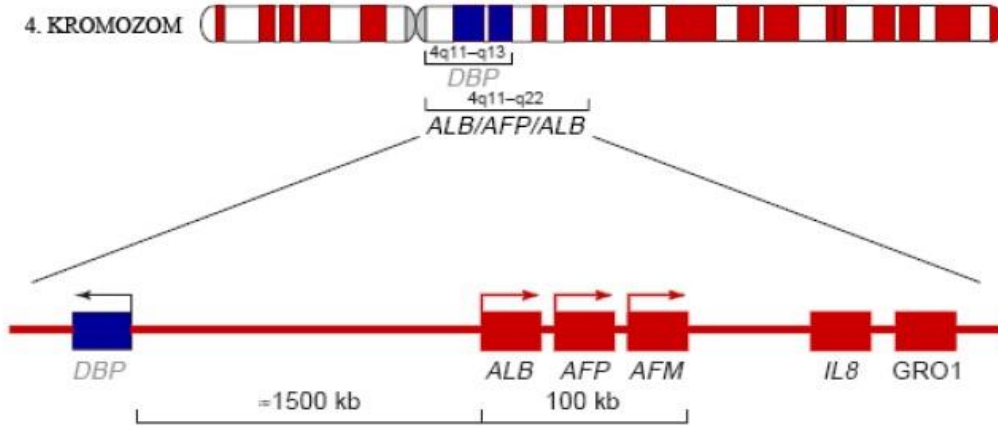
Böbrek ve ince barsakta bulunan kalsiyum ve fosfat iyon pompaları ile bu iyonları taşıyan proteinlere ait genler, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün VDR aracılığı ile etkilediği genler arasındadır (27, 29). VDR, osteoklastik differansiyasyon faktörü reseptörünün aktivatörü olan RANKL (Reseptör Aktivator Nükleer Kappa-B Ligandı, Receptor Activator for Nuclear Receptor Kappa-B Ligand) ekspresyon artışından da sorumludur. Bu sayede, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> VDR aracılığıyla osteoklastik aktiviteyi artırarak yeni kemik oluşumunda rol oynar (30, 31).

D vitamininin etkilediği diğer önemli genler arasında bazı xenobiyotik bileşiklerinin dokularda yıkılmadan sorumlu genler, safra asidi metabolizmasında yer

alan bazı genler, keratinosit diferansiasyonunu düzenleyen genler ve doğal ya da kazanılmış bağışıklıkta rol oynayan bazı anahtar hücrelerin fonksiyonlarıyla ilgili genler de bulunmaktadır (32-34). Hipertansif hastalar üzerinde yapılmış olan bir çalışmada D vitamini replasman tedavisinin kan basıncını düşürücü etkisi tespit edilmiş ve bu hastaların 30 ng/ml ve üzerindeki 25-(OH)D kan düzeylerinde, kan basıncı ortalamasının en düşük seviyede olduğu bulunmuştur (35). Bununla birlikte, D vitamini düzeyi kardiyovasküler fonksiyonlar açısından da önemlidir ancak, fazla miktarda alınan D vitamininin makrofajlarda gen ekspresyonunu artırarak, D vitaminin aterosklerotik plaklarda birikmesine neden olabildiği bildirilmiştir (36).

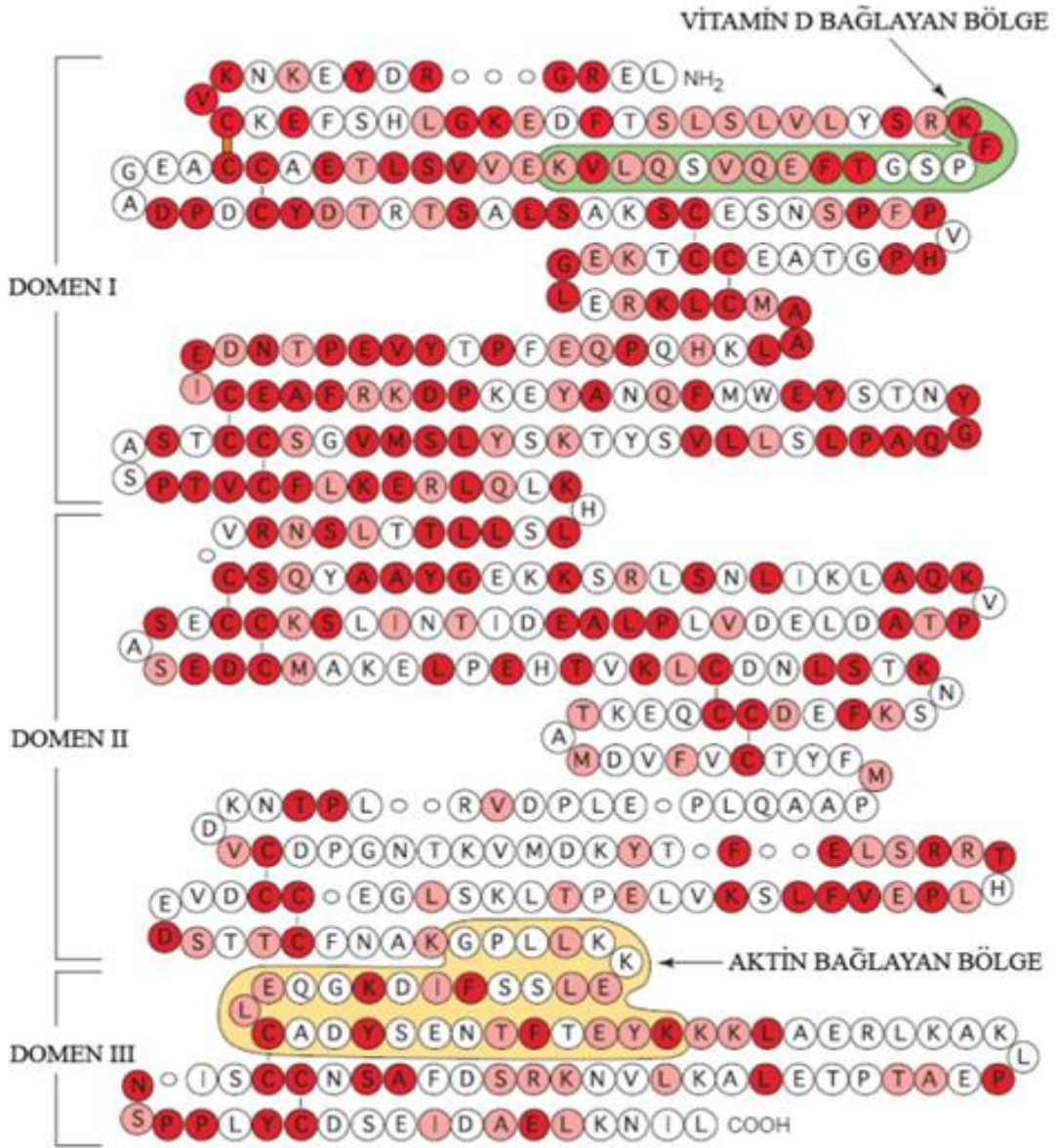
### **2.2.2. D Vitamini Baylayıcı Protein (VDBP)**

25-(OH)D ve 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'yi kanda taşıyan VDBP 58 kDa ağırlığında bir glikoproteindir (37). Yapısal olarak önemli bir serum proteini olan albümin ve alfa fetoproteine benzeyen VDBP öncelikle hepatositlerde ve az miktarda da böbrekte üretilir (38, 39). Başlıca görevi D vitamini metabolitlerinin kanda taşınması olan VDBP'nin hücre dışındaki aktini bağlamak, yağ asitlerinin taşınması, kompleman C5a'yı proteolitik parçalanmalardan korumak ve makrofaj aktive edici faktörler (VDBP-MAF) ile makrofaj ve osteoklastları aktive edici görevleri de vardır (39). VDBP'nin kandaki miktarı D vitamini metabolitlerinden 20 kat fazladır. Bu ilginç durum VDBP'nin D vitamini transportu dışında farklı görevleri olabileceğine işaret etmektedir (37). Kanda yüksek oranda bulunan VDBP, bir çok dokuya D vitaminin taşınması ve çeşitli hastalıkların oluşmasını engellemek için gereklidir (40). VDBP insanda 4. kromozamda 4q11-q13 bantları arasında bulunan tek bir gen tarafından kodlanır (Şekil 2.4) ve 4q11-4q22 arasında yerleşen albumin (ALB),  $\alpha$ -fetoprotein (AFP), ve  $\alpha$ -albumin/atamin (AFM) gen ailesinin bir üyesidir (41). Yapılan çalışmalar sonrasında bu aileye ait genlerin sentromere göre yerleşiminin "3'-DBP-5'-5'-ALB-AFP-AFM-3'-telomer" şeklinde olduğu tespit edilmiştir (42).



**Şekil 2.4.** D Vitamini bağlayan Protein (VDBP) gen lokusu. İnsan 4. kromozomu üzerinde yer alan VDBP, birbirleri ile bağlantılı olan albumin (ALB), alfa-fetoprotein (AFP) ve albumin-atamin (AFM) gen ailesinin bir üyesidir.

İnsan VDBP cDNA'sının dizilenmesi, 458 amino asitlik bir protein olarak salgılanan VDBP'nin 16 amino asitlik sinyal peptid dizisinin kesilmesinden sonra ALB ve AFP ile benzer aminoasit dizisine sahip olduğunu göstermiştir. VDBP'nin polipeptit zinciri yüksek miktarda sistein amino asiti içerir ve üç tane domenden oluşur. VDBP polipeptit zincirinin 35 ile 49'uncu amino asitleri arasında D vitamini bağlama bölgesi, 373 ile 403'üncü amino asitleri arasında aktin bağlayan bölgeler vardır (Şekil 2.5) (43).



Şekil 2.5. Şekil 5: VDBP proteininin Gc1S allelinin amino asit dizisi ve tahmini ikincil yapısı.

VDBP'nin 120'den fazla varyantı olduğu gösterilmişse de, elektroforezdeki hızlarına göre üç önemli fenotipik allel tanımlanmıştır (39, 44). VDBP'nin rs4588 ve rs7041 olmak üzere yaygın olarak incelenen iki polimorfizmi vardır ve Tablo 1'de gösterildiği üzere, 416 ve 420'nci amino asit pozisyonundaki değişiklikler nedeniyle GC1F, GC1S ve GC2 fenotipik allellere sahiptir (45, 46). Bu üç allel ise 1F\_1F, 1F\_1S, 1F\_2, 1S\_1S, 1S\_2 ve 2\_2 olmak üzere altı farklı VDBP genotipine neden olur. Bu farklı fenotipik kombinasyonuna ait frekanslar ise ırk-etnik köken, yaşanan coğrafyaya gibi nedenlerle değişiklik gösterebilmektedir (47, 48).

**Tablo 2.1** VDBP'nin fenotipik allelerine göre nükleotit ve amino asit değişimleri.

Fenotip Alleli	Nükleotit Değişimi rs7041 / rs4588	Amino asit Değişimi 416 / 420
1F_1F	TT / CC	Asp / Thr
1S_1S	GG / CC	Glu / Thr
2_2	TT / AA	Asp / Lys

Tablo 2.2'de ise bu üç farklı fenotipik varyantın kandaki VDBP düzeyleri ile 25-(OH)D<sub>3</sub>'e olan affiniteleri gösterilmiştir.

**Tablo 2.2** Sık rastlanan VDBP varyantlarının kandaki seviyeleri ile 25-(OH)D<sub>3</sub>'ü kendine bağlama ilgilerinin karşılaştırılması.

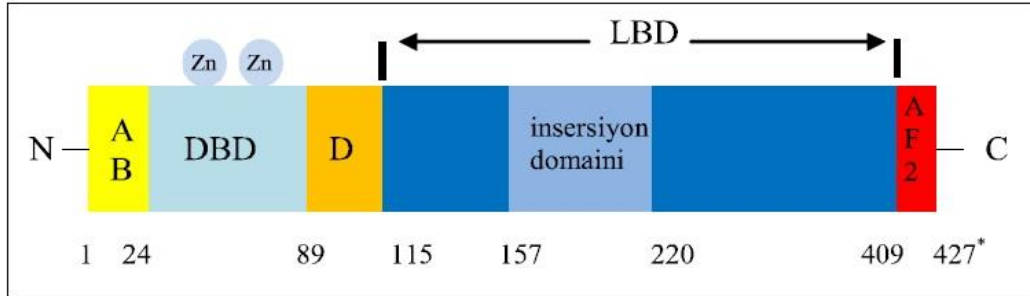
Fenotip	VDBP seviyesi	25-(OH)D <sub>3</sub> afinitesi
GC1F	En Düşük	En Yüksek
GC1S	En Yüksek	Orta
GC2	Orta	En Düşük

İrk, yaş, cinsiyet, VDBP fenotipi, östrojen oranı, karaciğer ve böbrek hastalıkları, kanser, diyabet vb. gibi fizyolojik ve patolojik faktörler VDBP'nin 25-(OH)D'ye bağlanma afinitesi üzerine değişikliğe neden olabilir. Afrikalı ve Amerikalı siyah tenlilerde GC1F alleleline daha sık rastlanırken beyaz tenlilerde ise GC1S alleli daha fazla bulunur (47, 48).

### 2.2.3. Vitamin D Reseptörü (VDR)

Hücre içerisinde D vitamini biyolojik etkisini, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D metabolitinin reseptörü olan VDR'ye bağlanarak gösterir. Nükleer reseptör ailesinin bir üyesi olan VDR proteini, benzer birkaç yapı dışında diğer nükleer reseptörlerden farklı yapı ve

fonksiyona sahip bölgeler içeren hücre içi bir hormon reseptörüdür. 48 kDa ağırlığında olan VDR proteini, Şekil 2.6'da gösterildiği gibi 5 farklı fonksiyonel bölgeye ayrılır (49, 50).



**Şekil 2.6.** VDR'nin yapısı. AB, Amino terminal domain; DBD, DNA bağlayan domain; D, Mentеше bölgesi; LBD, Ligand bağlayan domain; AF-2, Aktivasyon fonksiyonunun 2 bölgesi; \*, Aminoasit sayısı.

I. Amino Terminal Bölge (Domen A/B): VDR'nin transaktivasyon kapasitesinin tümünü belirlemeye yardımcı olan bölge; diğer nükleer reseptörlere göre daha kısadır.

II. DNA Bağlanma Bölgesi (DBD, Domen C): DNA bağlayan çinko parmak çıkıntıları olan, 2 çinko atomunu koordine eden 8 tane sistein amino asit kalıntısı içerir.

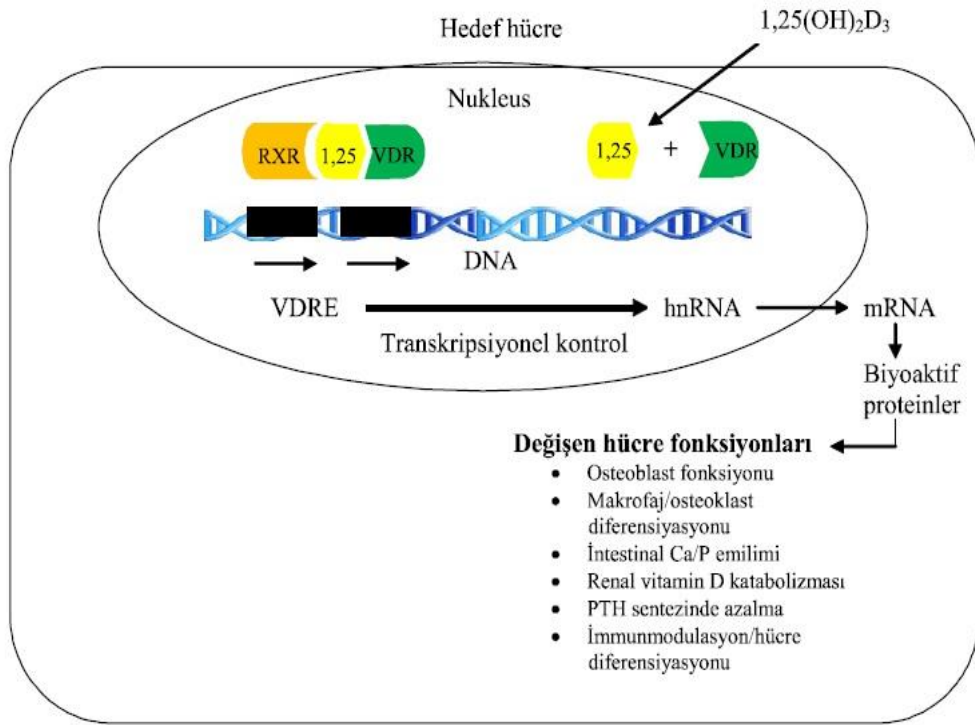
III. Mentеше Bölgesi (Hinge, Domen D): DBD ve LBD'yi birbirine bağlayarak bu iki molekül arasındaki dönme hareketindeki esnekliği de sağlayarak reseptör dimerizasyonu ve DNA ile etkileşime izin verir.

IV. Ligand Bağlama Bölgesi (LBD, Domen E): Çok fonksiyonlu globuler bir domen olup, nükleer hormon reseptörleri arasında değişkenlik gösteren bir bölgedir. Reseptörün ilgili hormonla diğer nükleer reseptör ligandlarıyla ve adaptör proteinler ile etkileşimini ayarlar.

V. Ligand Bağımlı Aktivasyon Fonksiyon-2 (AF-2) Bölgesi: Ligandın aktive ettiği transkripsiyon için çok önemli olup bu bölgedeki herhangi bir mutasyon transkripsiyonel olarak reseptörü inaktif hale getirir.



VDR, çeşitli biyolojik etkiler üretmek için hedef genlerin spesifik nükleotid dizileri ile etkileşime girmektedir (51). D vitamininin biyolojik etkilerini gösterebilmesi için ise VDR'nin ekspresyonu ve nükleer aktivasyonu gerekmektedir (52). VDR etkisini farklı genlerin transkripsiyonunu kontrol ederek yapar. Dolaşımdaki 1,25-(OH)<sub>2</sub>D, hücre membranı ve sitoplazmadan geçerek bağlanacağı nükleusa ulaşır ve VDR'nin ligand bağlanma bölgesine (LBD) bağlanarak VDR'yi hiperfosforile eder. Daha sonra, VDR'deki DNA bağlayıcı bölgenin (DBD) 24-44. ve 60-84. amino asitleri arasında bulunan çinko parmakları aracılığıyla hedef gende bulunan D vitamini cevap elemanı (vitamin D response elementlerine, VDREs) proteinine bağlanarak hedef geni aktive eder. Bu bağlanmanın gerçekleşebilmesi için öncelikle transkripsiyon başlangıç faktörlerinin bir araya toplanması gerekir. VDR'nin retinoik asit X reseptörü (RXR) ile kompleks oluşturması bu faktörlerin bir araya toplanmasını sağlar. VDR'ye 1,25-(OH)<sub>2</sub>D bağlanması sonucu AF-2 domeni konformasyonel değişikliğe uğrayarak LBD bölgesinde RXR ile birlikte dimerizasyonun başlamasına yol açar. Bu durum, koaktivatörleri aktive ederek transkripsiyon komplekslerinin toplanmasını başlatır. Histon asetil transferazlar (HATs) ve RNA polimeraz II enzimleri ile bağlantı kurarak, yani histon asetil transferazlar RXR'nin VDR'nin DBD bölümü ile hedef genlerin promoter bölgelerindeki VDREs'ler ile etkileşimine izin vererek transkripsiyonu başlatır. İnsanlarda VDR eksprese eden 60 farklı hücre olduğu ve 200'den fazla genin D vitamini tarafından düzenlendiği bildirilmiştir (25). VDR'nin paratiroid hücrelerde, hemopoetik hücrelerde, pankreas adacık hücrelerinde, keratonositlerde, üreme organları ve immün sistem dahil vücutta birçok dokuda etkileri olduğu bilinmektedir (Şekil 2.7) (50, 53).

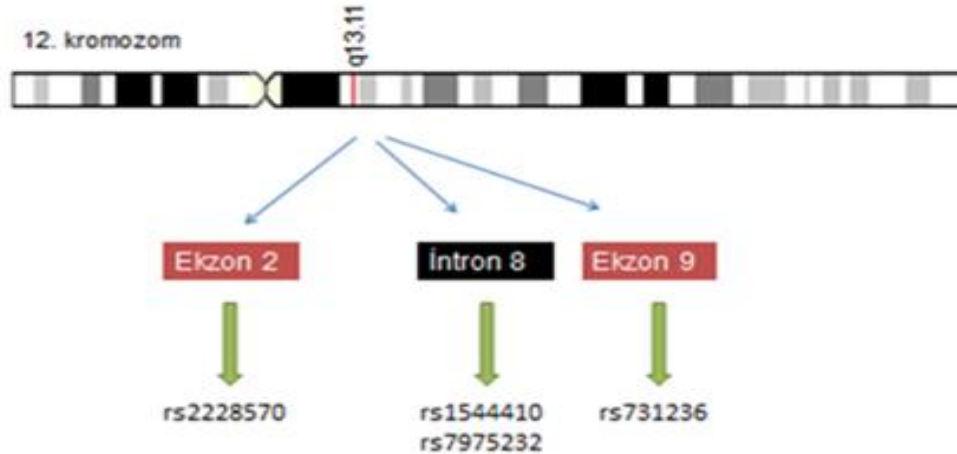


**Şekil 2.7. D vitamininin hedef hücrelerde VDR yoluyla transkripsiyon üzerine etkileri.**

#### 2.2.4. Vitamin D Reseptörü Gen Polimorfizmleri

VDR 12. kromozomun 12q12-q14' e bölgesine lokalize, 75 kb uzunluğunda olan bir gendir (54-56). 11 ekzondan oluşan genin 1A, 1B, 1C ekzonları 5'UTR bölgesini kodlar ve VDR transkriptlerinde polimorfik olarak bulunur. Diğer 8 ekzon (2-9) yapısal gen ürünü olan proteini kodlamaktadır. DNA dizilerinde meydana gelen varyasyonlar "polimorfizm" olarak adlandırılmakta ve farklı biyolojik etkilere neden olabilmektedir (52). D vitamini reseptör genine ait çok sayıda (100'ün üzerinde) polimorfik varyasyon tanımlanmış olup, farklı ırk ve etnik gruplarda bu polimorfizmlere ait farklı allel frekansları görülmektedir (57).

VDR geni ile ilgili en çok çalışılan tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs): FokI, BsmI, ApaI, TaqI polimorfizmleridir (58, 59). Ekzon 2'de görülen rs2228570 polimorfik bölgesi FokI restriksiyon enzimi kullanılarak, intron 8'de gözlenen rs1544410 ve rs7975232 polimorfizmleri ise sırasıyla BsmI ve ApaI enzimlerince, ekzon 9'da gözlenen rs731236 polimorfizmi ise TaqI restriksiyon enzimi kullanılarak tespit edilebilir (Şekil 2.8) (6, 60, 61).



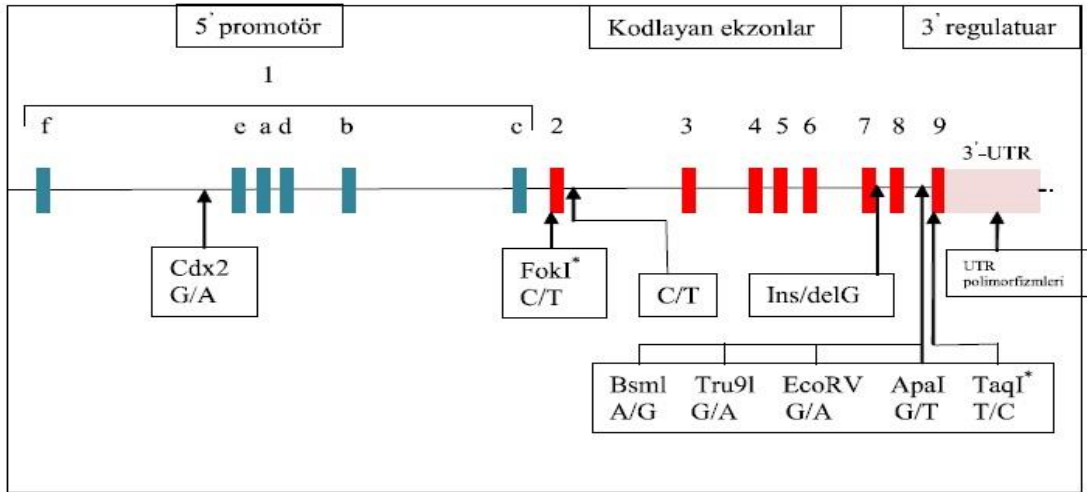
**Şekil 2.8.** VDR geni polimorfik bölgelerinin şematik gösterimi.

Ekzon 2’de meydana gelen FokI polimorfizmi, başlangıç kodon polimorfizmi olarak da bilinmektedir. VDR geninde iki tane ATG başlangıç kodonu vardır. Birinci başlangıç kodonu olan ATG’ de bulunan T→ C değişimi sonucunda ATG→ACG’ye dönüşür ve translasyon ikinci ATG’ den başlar. Bunun sonucunda 3 aminoasit daha kısa (424 aminoasit) olan VDR proteini sentezlenir (62).

Ekzon 9’da bulunan TaqI gen polimorfizminde ATT kodonundaki T→ C değişimi sonucunda ATT kodonu ATC’ ye dönüşür. Hem ATT hem de değişim sonucunda oluşan ATC kodonlarının her ikisi de aynı amino asit olan izolösini kodlaması nedeniyle bu polimorfizm sonucunda VDR proteininin aminoasit dizi ve sayısında bir değişiklik olmaz (63).

İntron 8’de de BsmI ve ApaI polimorfizmleri bulunur (59). Şekil 2.9’ da VDR genindeki polimorfizmlerinin yerleri görülmektedir (62).

VDR genindeki polimorfizmlerin D vitaminin biyolojik fonksiyonlarıyla ilişkili olabileceğini moleküler epidemiyolojik çalışmalar göstermektedir (64). Örneğin; TaqI, ApaI ve BsmI polimorfizmleri, gen transkripsiyonunu ve mRNA stabilitesini etkilemektedir (65). VDR genindeki polimorfizmler, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D vitamininin bağlanmasını ve antiproliferatif etkisini potansiyel olarak etkilemektedir (66).



**Şekil 2.9.** VDR gen polimorfizmlerinin lokalizasyonu. \*, Kodlanan sekanslardaki polimorfizmleri göstermektedir.

### 2.3. D Vitamini Ölçüm Yöntemleri

D vitamini kandaki düzeyini belirlemek için ölçülmesi gereken en uygun metabolit biyolojik olarak aktif form olan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> olduğu düşünülse de bu doğru değildir. Çünkü dolaşımdaki 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün düzeyi 25-(OH)D'ye göre 1000 kat düşüktür ayrıca, yarı ömrü de 4-6 saat gibi oldukça kısadır. Bununla birlikte, kandaki kalsiyum ve fosfor düzeyleri PTH düzeyinin değişmesine neden olacağından bu durum dolaşımdaki 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> düzeylerinin değişmesine de yol açacaktır. Bu etkilerden dolayı, D vitamini eksikliği olan bir kişide 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> düzeyi normal bulunabilir. Kandaki 25-(OH)D'nin düzeyi hem ciltte sentezlenen hem de oral diyetle dışarıdan alınan D vitaminlerinin toplamını göstermesi açısından ve bu molekülün yarılanma ömrünün yaklaşık 2-3 hafta olması nedeniyle de D vitamini düzeyini değerlendirmedeki en iyi parametrenin toplam 25-(OH)D'nin ölçülmesidir (67, 68).

25-(OH)D ölçümünde 1971 yılında kullanılan ilk yöntem D vitamini bağlayıcı proteinin (DBP) bağlayıcı olarak kullanıldığı yarışmalı protein bağlama yöntemidir (69). 1977 yılında geliştirilmiş olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC) yönteminde ultraviyole (UV) absorpsiyonu ile ölçüm yapılmaktadır. Bu yöntemin en önemli avantajı 25-(OH)D<sub>2</sub> ve 25-(OH)D<sub>3</sub>'ün girişim yapan lipidlerden ve diğer D vitamini metabolitlerinden ayrılarak ölçülebilmesidir. Ancak bu yöntemin uygulanmasında iyi donanıma ve deneyime sahip

uzman kişilere ihtiyaç duyulur (69, 70). 1985 yılında ön işlem gerektirmeden ölçüm yapabilen radyo immuno (Radio Immüno Assay, RIA) yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntem, kolay uygulanması ve analiz sonuçlarının HPLC yöntemiyle uyum göstermesi açısından tercih edilen yöntemler arasındadır. Ancak, yarışmalı VDBP bağlama ölçümündeki gibi 25-(OH)D<sub>2</sub> ve 25-(OH)D<sub>3</sub> metabolitlerini eşit oranda tanımakta ve diğer polar D vitamini metabolitlerinin [24,25(OH)<sub>2</sub>D; 25,26-(OH)<sub>2</sub>D; 23-lactone] ayırımını kesin olarak belirleyememektedir. Bu nedenle 25-(OH)D düzeylerini %10-20 fazla ölçmektedir (69-71). Daha sonra geliştirilmiş olan enzim bağlı immuno (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) yöntemi ise RIA ve yarışmalı VDBP bağlama yöntemlerindeki gibi diğer polar D vitamini metabolitlerini ayırt edemeden ölçüm yapmaktadır. Bununla birlikte, yüksek maliyetli kemilümminesans yöntemi 25-(OH)D<sub>2</sub> ve 25-(OH)D<sub>3</sub>'e eşit oranda spesifiktir (69). 25-(OH)D ölçümünde yakın geçmişte ve günümüzde yaygın olarak kullanılmakta olan otomatik immünoassay analiz yöntemlerinin çoğu sınırlı hassasiyete, dar ölçüm aralığına, yüksek maliyetlere ve yetersiz standardizasyona sahip olup dolaşımda bulunan D vitamini metabolitleri ile de çapraz reaksiyon göstermektedir. Otomatik immün analizlerde organik çözücü kullanılmadan yapılan ekstraksiyon ve 25-(OH)D'nin antikor yapısını bozmadan bağlayıcı proteinden ayırımı çok hassas bir şekilde sağlanmaktadır. Bu nedenle bu yöntemler serumdaki matriks etkisine karşı çok duyarlıdır (72, 73). Kromotografik yöntemlerde immünoassay yöntemlere göre matriks etkisi daha azdır. Bu sayede kromotografik yöntemler ile 25-(OH)D<sub>3</sub>, 25-(OH)D<sub>2</sub> ve 3-epi-25-(OH)D<sub>3</sub> ayrı ayrı ölçülebilmektedir. Günümüzde altın standart (referans) yöntem olarak kütle spektrometresi kabul edilmekle birlikte HPLC, Radyoimmünoassay, Elektrokemilümminesans immünoassay gibi yöntemler de sıklıkla kullanılmaktadır (74-77).

### 2.3.1. D Vitamini Referans Aralıkları

Plazma 25-(OH)D vitamin düzeyi için normal bir aralık belirlemek oldukça güçtür. Ülkemizde serum 25-(OH)D vitaminin eşik düzeyi 30 ng/mL olarak kabul edilirken, 30 ng/mL altındaki değerler yetersiz/düşük, 10ng/mL'nin altında olması D vitamini eksikliği olarak tanımlanmaktadır. Bir literatüre göre serumdaki 25-(OH)D düzeyi 10 µg/L altında ise D vitamini yetmezliği, 10–24 µg/L arasında ise D vitamini

eksikliği, 25-80 µg/L arasında ise D vitamini yeterli, 80µg/L üzeri ise D vitamini toksitesi olarak bildirilmektedir (39). Bir başka literatüre göre de 25-(OH)D seviyesi 20 µg/L altında ise D vitamini eksikliği, 21-29 µg/L arasındaysa D vitamini yetersizliği, 30 µg/L'ye eşit ve üzerindeyse D vitamini yeterli olarak kabul edilmektedir (78, 79). D vitamini düzeyi için üst sınır tartışmalı olsa da serumdaki 25-(OH)D düzeyinin 150 µg/L üzerinde olması D vitamini intoksikasyonuna eşlik eden hiperfosfatemi, hiperkalsemi ve hiperkalsiüri olarak kabul edilmektedir (67). PTH'ı aktive etmeyecek en düşük 25-(OH)D düzeyi 30 ng/ml'dir (75 nmol/l). Bu nedenle D vitamini için yeterli düzey >30 ng/ml (75 nmol/l) olarak kabul edilmektedir (78, 80).

#### **2.4. Beyin Tümörleri ve Epidemiyolojisi**

Beyin tümörü, kafatası içerisinde beyinde kontrol dışı büyüyen, çoğalan ve bulunduğu yere göre etki gösteren kitle oluşumlarıdır. Patolojik açıdan benign ve malign olarak iki çeşidi vardır (81). Düşük dereceli tümör olarak bilinen benign (iyi huylu) tümörleri, beyin periferik sinir sistemini kapsayarak parankim dokuyu etkileyen tümörlerdir. Beyin tümörleri primer ve sekonder olarak da sınıflandırılabilir (81). En yaygın primer santral sinir sistemi tümörlerinden Gliomlar malign (kötü huylu) beyin tümörlerindedir (81). Primer beyin tümörleri, genellikle beyin dokusu kraniumdan veya periferik sinirlerden ve beyni kaplayan meninkslerden meydana gelir. Sekonder beyin tümörleri ise diğer sistemlerde ya da organlarda meydana gelen kanserli hücrelerin beyin dokusuna yayılması ile ortaya çıkar (81, 82). Metastatik beyin tümörü olarak da isimlendirilen sekonder beyin tümörleri en fazla akciğer ve meme kanserinden daha sonra gastrointestinal sistem tümörleri, melanomlar ve renal sistem tümörlerinin metastazı sonucu oluşmaktadır (81). Yapılan çalışmalarda, primer beyin tümörlerinin oluşumuna neyin neden olduğu tam olarak bilinmese de genetik faktörler, toksik kimyasallar veya iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma gibi bazı çevresel faktörlerin beyin tümörü oluşumuna katkıda bulunduğu belirtilmektedir (83).

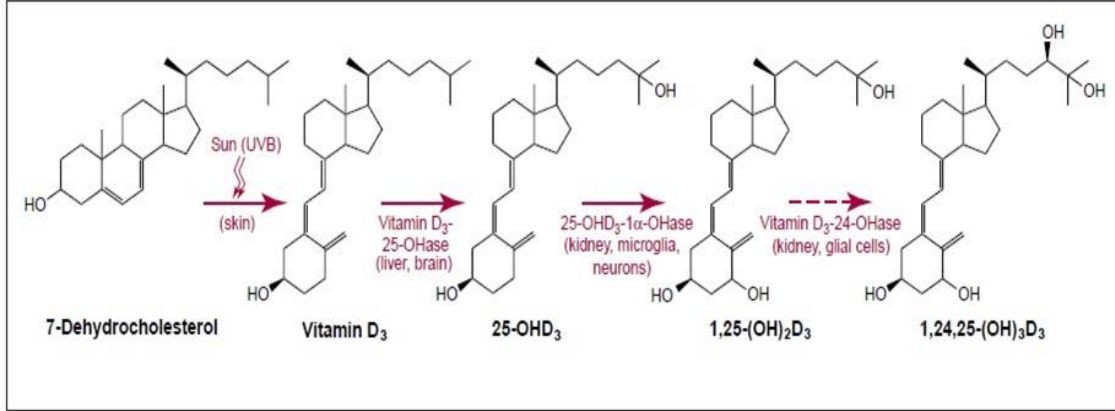
Dünyadaki kanser vakaları arasında beyin tümörleri sık görülen tümörler arasındadır. Dünyada 2012 yılında kanser ile ilgili yapılan istatistiksel çalışmalarda nüfusun %1,8'inde beyin kanseri teşhisi konmuş ve ölüm oranı %2,3 olarak belirtilmiştir (3). Türkiye'de de 2014 yılında kanser ile ilgili yapılan istatistiksel araştırmada en sık görülen kanserlerin %2'sini beyin kanserinin oluşturduğu

belirtilmiştir (84). Aynı yıl yapılan başka bir istatistiksel çalışmada beyin ve sinir sistemi kanserlerinin Türkiye'deki ilk 10 kanser çeşidi içerisinde olduğu belirtilmiştir (85). Bir çok gelişmiş ülkede yapılan çalışmalar, beyin tümörü oluşumu ve buna bağlı ölüm oranındaki artışa işaret etmektedir (86). 15 yaş altı çocuklarda solid tümör sebebi ölümlerinin nedeni merkezi sinir sistemi patolojileri arasındaki en yıkıcılarından biri olan beyin tümörlerinden kaynaklanmaktadır. Buna ek olarak, 20 ile 40 yaş arasındaki erkeklerde kanser nedeniyle ölümlerde beyin tümörleri ikinci sırada yer almaktadır (87, 88).

#### **2.4.0. Beyindeki D Vitamini Varlığı ve Metabolizması**

Kalsiyum ve fosfat metabolizmasını düzenleyerek kemik yapısının korunması D vitaminin en önemli görevi olarak uzun bir süre kabul görmüştür (89-91). Bununla birlikte, 1979 yılından sonra yapılan çalışmalarda D vitamini fonksiyonu için gerekli olan VDR'nin 50'den fazla dokuda var olduğunu gösterilmiştir (90, 92-94). D vitamini metabolitleri diğer nörosteroidler gibi beyin bariyerini geçebilmektedir (95). Beyindeki D vitamini metabolitlerinin varlığını göstermek için endokrin rahatsızlığı olmayan kişilere yapılan lomber ponksiyon işlemi sonrasında 25-(OH)D<sub>3</sub>, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ve 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> metabolitlerinin beyin omurilik sıvısında bulunduğu gösterilmiştir (96). 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün yetişkin ve gelişmekte olan beyinde de bulunduğunu Eyles ve ark. yapmış oldukları çalışmada göstermiştir. İnsan beyinde, kemirgen beyinde ve fetal kemirgen beyinlerinde VDR ve 1-alfa hidroksilaz ( CYP27B1) enziminin varlığı da gösterilmiş (91, 97-101) ve insan ile kemirgen VDR beyin dağılımlarının birbirine çok benzediği bildirilmiştir (102). Çalışmalarda merkezi sinir sisteminin (MSS) mikrogliya, astrosit, oligodendrosit hücreleri ile periferel sinir sisteminin (PSS) Schwann hücre çekirdeklerinde VDR'nin bulunduğu gösterilmiştir (97, 98, 103-106). İn vitro mikrogliya hücreleriyle yapılan hücre kültürü deneylerinde de bu hücrelerin 25-(OH)D<sub>3</sub>'ü 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'e metabolize ettiği doğrulanmıştır (107). Beyin D vitamini aktif metaboliti olan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> molekülünü sentezleyebilirken, CYP24A1 ise aktif olan metaboliti 1,24,25(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub>'e dönüştürerek inaktifleştirir. Sıçan primer glia hücrelerinde 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün miktarının artırılmasıyla CYP24A1 mRNA ekspresyonunun doz bağımlı olarak arttığı gözlemlenmiştir (108). Bu durum beyinde 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün miktarının düzenlendiğini göstermektedir (102). Şekilde gösterildiği

üzere öncül D vitaminini biyolojik aktif forma dönüştüren enzimlerin, yapılan birçok çalışmada beyinde de sentezlendiği gösterilmiştir (Şekil 2.10) (89).



Şekil 2.10. Beyinde D vitamini metabolizması.

#### 2.4.1. D vitaminin Beyindeki Fonksiyonları

Sinir sistemi üzerindeki D vitaminin koruyucu etkisi dikkat çekmektedir. Sinir büyüme faktörü (Nerve Growth Factor, NGF) gibi bazı nörotrofin ailesi üyelerinin sentezlerinin düzenlenmesinde D vitamini rol oynamaktadır (109-111). D vitaminin nörotrofin sentezini arttırmasının nörokoruyucu etkiyle ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (112). D vitamini hipokampusdaki nöronlarda voltaja duyarlı L tipi kalsiyum kanallarının sentezini azaltarak, nöronal kalsiyum homeostazını düzenleyerek sinir sistemi üzerinde koruyucu etki gösterir. Bu sayede eksitotoksik etkilere karşı nörokoruyucu etki göstermiş olur (110, 113). Parvalbumin gibi kalsiyum bağlayan proteinlerin sentezini arttırarak da D vitamini nörokoruyucu etki gösterir (114). Yüksek seviyelerde uyarılabilen nitrik oksit sentazın (inducible nitric oxide synthase, iNOS) ifade edilmesi, nöronlara ve oligodendrositlere zarar veren nitrik oksitin üretimine neden olacağından D vitamini iNOS sentezini engeller. Bu nedenle Alzheimer, Parkinson, Multiple Skleroz gibi nörodejeneratif hasatlıklarda iNOS seviyelerinin yükselmesi önemlidir (115). D vitamininin nörotransmitter sentezinde, kolin asetil transferaz ve tirozin hidroksilaz ekspresyonunu düzenleyerek etki ettiği çalışmalarda gösterilmiştir (Şekil 2.11 ve Tablo 2.3) (89, 90, 116, 117). 6-hidroksidopamin ile



sıçanlarda indüklenen nörotoksisite ve hipokineziyi D vitamininin azalttığı saptanmıştır (89).

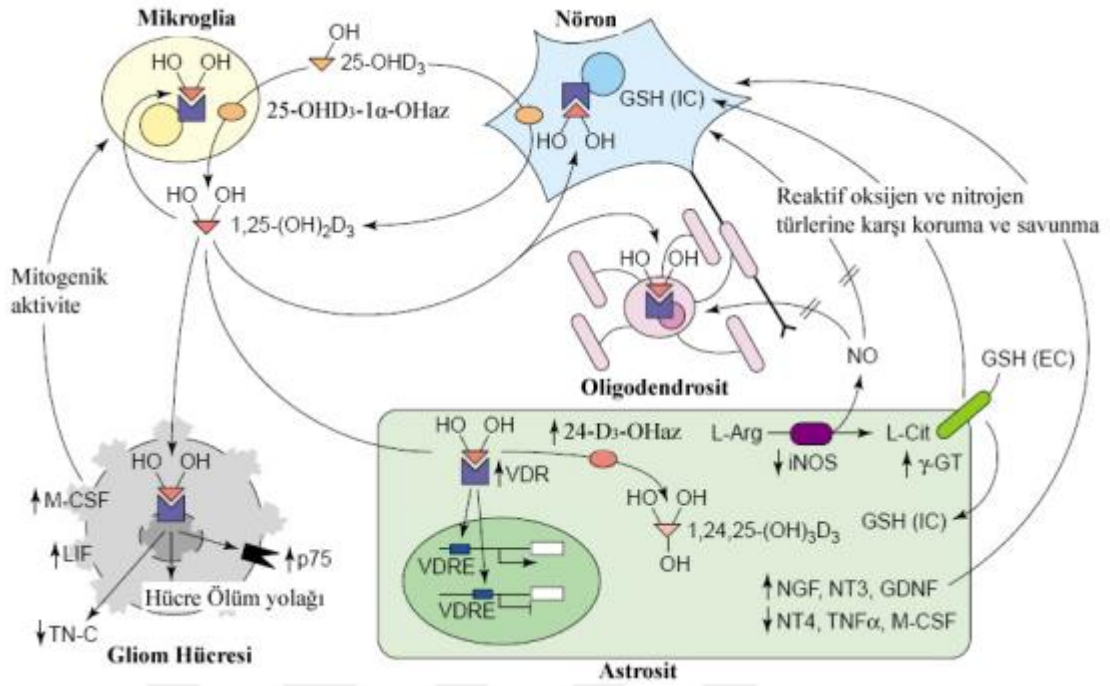
**Tablo 2.3** 1,25-(OH)<sub>2</sub>D'nin sinir sistemine ait dokular üzerinde moleküler ve hücresel etkileri (89).

Fizyolojik Olay	Vitamin D Etkisi	Gen Seviyelerinde Artış / Azalış	Hedef Hücre veya Doku
<b>D Vitamini Metabolizması</b>	24-Hidroksilaz mRNA	↑	Astrofitler
	VDR mRNA	↑	Astrofitler, Gliom hücreleri, Schwann Hücreleri
<b>Büyüme Metabolizma Faktörleri</b>	NGF (Sinir Büyüme Faktörü)	↑	Yetişkin Sıçan Beyni, Astrofitler, Schwann Hücreleri, Hippokampal Nöronlar
	NT-3 (Nörotrofin 3)	↑	Astrofitler
	NT-4 (Nörotrofin 4)	↓	Astrofitler
	GDNF (Glial Kökenli Nörotrofik faktör)	↑	Gliom Hücreleri
<b>Nörotransmitter Metabolizma</b>	LVSCC (L-Tipi Voltaj Duyarlı Kalsiyum Kanalı)	↓	Hippokampal Nöronlar
	Trozin Hidroksilaz	↑	Adrenal Kromaffin Hücreleri

	Kolin Asetil Transferaz		Yetişkin Sıçan Striatumu
<b>Nöro Koruma</b>	İskemiyle Oluşan Nörotoksisite		Yetişkin Sıçan Korteksi
	Diyabet Sonucu Oluşan Nöropati		Yetişkin Sıçan Periferel Sinir sistemi
	6-Hidroksi Dopamin Toksisitesi		Yetişkin Sıçan Beyni
	Parvalbumin		Yetişkin Sıçan Striatumu
	Gama-Glutamil Transpeptidaz		Yetişkin Sıçan Beyini , Astrozitler
	Glutasyon Seviyesi		Astrozitler, Dopaminerjik Nöronlar
	<b>Nöro immünite</b>	Enflamasyon	
iNOS (İndüklenebilir Nitrit oksit Sentaz)			Yetişkin Sıçan Beyini , Astrozitler
M-CSF (Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör)			Astrozitler
TNF – $\alpha$ (Tümör Nekroz Faktör Alfa)			Astrozitler
TGF – $\beta$			Yetişkin Fare Beyni

	(Dönüştürücü Büyüme Faktörü $\beta$ )		
	IL – 4 (İnterlökin 4)		Yetişkin Fare Beyni
<b>Nöro onkoloji</b>	Hücre Ölümü/Farklılaşma		Sıçan Gliom Hücreleri, İnsan Glioblastoma
	p75		Sıçan Gliom Hücreleri
	Tenascin-C		Sıçan Gliom Hücreleri
	M-CSF (Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör)		Sıçan Gliom Hücreleri
	LIF (Lösemi İnhibitör Faktörü)		Sıçan Gliom Hücreleri

D vitamini eksikliğinin beyin fonksiyonlarının bozulma riskini arttırabileceği hayvan deneyleriyle gösterilmiştir (118). Tablo 2.3’de D vitaminin sinir sistemi üzerindeki moleküler ve hüresel fonksiyonları gösterilmiştir.



Şekil 2.11. Beyindeki muhtemel D vitamini sinyal yolu (89).

## 2.5. D Vitamini ve Kanser

2012 yılı itibariyle dünyada kanser nedenli ölüm sayısı 14 milyonu aşarken, günümüzde kanserli hasta sayısı ile mortalite oranında da artış görülmektedir (119). Bu kadar büyük prevalansa sahip olan kanserin literatürde tam olarak tanımlanmış bir tanımı ve nedeni yoktur. 1800'lü yıllarda bulunmuş olan D vitaminin, kalsiyum dengesinin düzenlenmesi gibi önemli fonksiyonlarının yanında yaklaşık yüz yıldır kanserle olan ilişkisi bilinmektedir (120). Aynı zamanda 2008 yılında uluslararası kanser araştırma merkezi tarafından D vitamini ve kanser arasında nedensel bağlantının kanıtını gösteren bir rapor yayımlanmıştır (121). 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> hücre proliferasyonu, invazyonu, angiogenez ve metastaz üzerine azaltıcı etki gösterirken diferansiasyon ve apoptozis üzerine ise artırıcı etki göstermektedir (122). Kanser hücrelerinde yapılan çalışmalar D vitamininin antiproliferatif etkisini hücre döngüsünü kesintiye uğratarak gösterdiği bildirilmiştir (123). 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün hücre döngüsünü düzenlediği düşünülürken hücre döngüsünde 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün, indüklediği veya baskıladığı birçok siklin, siklin bağımlı kinaz ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri vardır. Bununla birlikte, transkripsiyon faktörlerinin de olaya dahil edilmesiyle 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, DNA replikasyonu ve tamirinde görev yapan genlerin

aktive olmasını sağlar (124). D vitamini etkisini kinaz inhibitörlerini uyararak ya da kinaz aktivitesini baskılayarak gösterir (125). Kemoterapik ilaçlar ile tümörlü hücrelerin yok edilmesindeki temel amaç, bu ilaçlar ile tümörlü hücrelerin programlı hücre ölümü olarak bilinen hücredeki apoptozis yolunu uyararak tümörlü hücrelerin yok edilmesidir (126). D vitamini programlı hücre ölümü üzerindeki etkisini ya apoptozisi önleyen (anti-apoptotik) proteinlerin ekspresyonunu azaltarak ya da apoptotik proteinlerin ekspresyonunu uyararak gösterir (127). D vitamini ile kanserli hücreler arasındaki ilişkiyi gösteren ilk çalışma melanom ve lösemi hücre kültürlerinde yapılmış olup, 1,3 nM derişiminde 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> uygulamasının tümörlü hücrelerin çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (128, 129). In vitro deneylerin yanı sıra ratlar üzerinde Milczarek ve arkadaşlarının yapmış olduğu in vivo çalışmalarda da D vitamini analoglarının kanserli hücrelerin büyümesini inhibe ederek anti kanser etki gösterdiğini belirtilmiştir (130). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada ise, D vitaminin kötü huylu prostat kanser hücrelerinin sayısını azalttığını bu nedenle de D vitamininin düzeltilebilir bir risk faktörü olarak kabul edilebileceğini önermiştir (131).

In vitro ve in vivo yapılan çalışmalar, D vitaminin aktif metaboliti olan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün kanserli hücrelerde farklılaşma ve programlı hücre ölümünü tetiklemesinin yanı sıra anti-inflamatuvar ve anti-anjiyogenik özellikleriyle de çoğalmayı inhibe ettiğini ortaya koymaktadır. Laboratuvar çalışmaları ayrıca, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün VDR'ye bağlanarak hücre çoğalmasından sorumlu olan çeşitli genleri düzenleyerek kanserli hücrelerin büyümesini inhibe ettiği göstermiştir (26, 132, 133).

Yapılan çalışmalar sonucu D vitamini depo formu olan 25-(OH)D<sub>3</sub>'ün yüksek düzeylerinin çeşitli kanser türlerinde düşük insidans ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (134-137). Kanserli kişilerde D vitamini düzeylerinin düşük olduğunu göstermek amacıyla Liang Shi ve ark. tarafından yapılan araştırmaya göre kanser tanısı konmuş olan 1940 kişinin 25-(OH)D seviyeleri ölçüldüğünde % 71'inin 25-(OH)D seviyelerinin yetersiz ve eksik olduğu gösterilmiştir (138). 25-(OH)D düzeyi ile kanserli bireylerin patolojik sonuçları arasındaki ilişkiyi araştıran Ji Riyang Kim ve ark. düşük D vitamini seviyesine sahip olan hastalarda kanserli hücreler ile lenf nodlarına yayılma alanının daha büyük olduğunu göstermiştir (139). Bir başka çalışmada Neuhouser ve ark., Amerikada meme kanserine yakalanan hastaların %75,6'sının 25-(OH)D seviyesinin düşük olduğunu belirtmiştir (140). D vitamini eksikliği nedeniyle kolon,

göğüs, prostat ve yumurtalık kanserlerine yakalanan kişilerde düşük yaşam sürelerine de işaret edilmiştir (141-144). Prospektif ve retrospektif çalışmalara göre 25-(OH)D düzeylerinin 20 ng/ml'den düşük olması kolon, prostat ve akciğer kanserine bağlı ölümleri %20–50 oranında artırmaktadır (145-148).

Kanser dışında düşük D vitamini seviyelerinin iskemik hastalıklar, bağışıklık sistemiyle ilgili hastalıklar, enfeksiyonlar ve metabolik sendrom gibi hastalıklarla da ilişkili olabileceği önerilmiştir (149).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı

Bu çalışmaya iki örnek grubu dahil edilmiştir. Birinci grup olan hasta grubu, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından takip edilen ve beyin kanseri tanısı konmuş 71 adet gönüllü hasta bireyden, ikinci grup olan kontrol grubu ise herhangi bir malignite bulgusu ve tercihen ailede kanser hikayesi olmayan 84 adet sağlıklı bireylerden oluşturulmuştur. Çalışmamıza dahil edilecek beyin kanseri tanısı konmuş hastaların klinik ve histopatolojik değerlendirmeleri yukarıda belirtilen klinik tarafından gerçekleştirilmiştir. Tüm çalışma grubunu oluşturan hasta ve kontrol gruplarından 10 mL'lik kuru ve EDTA'lı tüplere kan örneklerinin alınması gönüllü olur form imzaları alındıktan sonra İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır.

#### 3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yerler ve Özellikleri

##### 3.2.1. Örneklerin Toplanması

84 adet gönüllü sağlıklı kontrol ile İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından takip edilen ve beyin kanseri tanısı konmuş 71 adet gönüllü hasta bireyden 10mL'lik EDTA'lı ve kuru tüplerle kan örnekleri alındı.

##### 3.2.2. Yapılan Deneyler

İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalındaki laboratuvarlar kullanılarak tez kapsamında yer alan, EDTA'lı tüplere alınan insan kanından DNA izolasyonu, PCR-RFLP yöntemi ile genetik varyasyon analizleri, kuru tüplere alınan kan örneklerinden serum izole edilerek HPLC yöntemi ile D vitamini düzeylerinin ölçülmesi gerçekleştirildi.

#### 3.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler, Kitler ve Gereçler

PureLink® Genomic DNA Mini Kit , HPLC yöntemiyle serum/plazmadaki 25-OH-Vitamin D3/D2 ölçüm kiti, C18 HPLC kolonu, Distile su (ULTRAPURE), Taq DNA polimeraz enzimi (3000 U), Primer (150nmol) HPLC Grade, Etidyum Bromür Likit (10mg/ml), Tris Base MB Grade, Absolü Etanol (%99), TaqI restriksiyon enzimi (1000 U), FokI restriksiyon enzimi (1000U), HaeIII restriksiyon enzimi (1000U), 50 ml

falkon tüp, sızdırmaz kapaklı, steril, (500adet/paket), Ependorf tüpü 0.2 ml , 1000 lik (DNase,RNAase free), Ependorf tüpü 0.5 ml, 1000 lik (DNase,RNAase free), Ependorf tüpü 1,5 ml, 500 lik (DNase,RNAase free), EDTA'lı tüp 10ml'lik, Kuru tüp 10ml'lik.

### **3.4. Deneylerde Kullanılan Cihazlar**

Tez çalışmasında yer alan deneylerde İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı bünyesinde bulunan HPLC (Azura, Knauer), Distile su cihazı (Millipore), DNA izolasyon kiti, pH metre (Hannan), NanoDrop (Maestro, Nano), PCR cihazı(BioRad), PCR mikropipetleri, DNA/RNA UV Cleaner Kabin (Biosan), Elektroforez sistemi (E-C 350 MIDICELL), UV Jel Görüntüleme sistemi (Kodak EL LOGIC), Santrifüj (Nüve ve Hettich), mikrosantrifüj (Hettich), Spektrofotometre, Mikrodalga (Philco), Hot plate (Fisher Scientific), -20 °C Derin dondurucu (Regal), -80 °C Derin dondurucu (Daihan Scientific), Etüv (Heraeus), Otoklav (ALP), Pipet seti (Eppendorf), +4 °C Buzdolabı (Arçelik), Hassas terazi (Shimadzu ısıtıcı blok, etüv, otoklav, vorteks (Biosan), Güç kaynağı (E-C Apparatus Corporation) , Çeker ocak (Opas) gibi cihazlar kullanıldı.

### **3.4.0. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler**

#### **3.4.0.1. Agaroz Jel Yükleme Tamponu**

% 40 süzkroz ile % 0,25 bromfenol mavisinden oluşan kırıyım hazırlandı. Çalışma boyunca hazırlanan yükleme tampon çözeltisi oda sıcaklığında saklandı.

#### **3.4.0.2. Etidyüm Bromür**

Terazide 1 g Etidyum bromür tartıldıktan sonra 10 mL'lik balon jøjeye alındı ve üzerine 10 mL distile su ilave edilerek çözüldü.

#### **3.4.0.3. 5X Tris Borik Asit Etilendiamintetraasetat (TBE) Tamponu**

Terazide 54 g Triz baz, 27,5 g borik asitten tartılarak 1L'lik behere konuldu, üzerine 800 mL distile su ilave edildi. Beher manyetik karıştırıcı üzerine alınarak içindeki maddeler çözüldürüldü. Maddeler çözüldükten sonra üzerine 0,5 M'lik EDTA çözeltisi 20 mL eklenip karıştırıldı. Hazırlanan çözelti 1L'lik balon jöje alınarak



çözeltinin son hacmi 1L'ye distile su ile tamamlandıktan sonra 120 °C'de 15 dakika otaklavlandı ve oda sıcaklığında saklandı.

### 3.5. Kullanılan Yöntemler

#### 3.5.1. DNA İzolasyonu

##### 3.5.1.1. Periferik Kandan DNA'nın İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerden EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örneklerinden genomik DNA'lar, DNA izolasyon kiti kullanılarak izole edildi. Periferik kandan DNA izolasyonu aşağıdaki işlemler sırasıyla yapılarak gerçekleştirildi.

#### DNA izolasyonuna başlamadan önce Yapılanlar

%70'lik etanol ile benç üstü gibi çalışmayerleri ve pipet uçları silindi.  
Çalışılacak alan UV ışık ile 10 dakika sterilize edildi.  
Çeker ocak çalıştırılır.

#### DNA izolasyon kit protokolü (Jena Bioscience, Blood-Animal-Plant DNA Preparation Kit)

1.	200 µl kan örneği ile 1 ml liziz tamponu uygun ependorf tüpüne alınarak karıştırıldıktan sonra buz üzerinde 10 dk inkübasyona bırakıldı ve inkübasyon esnasında 2-3 kez yavaşça vortekslenerek karıştırıldı.
2.	10000 g'de 10 dakika santrifüj edildi, süpernatant atıldı, 30-60 saniye iyice vortekslendi.
3.	8 µl proteinaz K ilave edildi ve pipetaj ile dikkatlice karıştırıldı.
4.	60 °C'de 10 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı ve 5 dakika soğuması için bekletildi.
5.	Soğuduktan sonra üzerine 300 µl bağlanma tamponu (binding buffer) eklendi, hafifçe vortekslendi ve 5 dakika boyunca buz üstünde bekletildi.

6.	10000 g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra örneğin tamamı kolonlu tüpüne aktarıldı.
7.	Kolonlu tüp içine birkere daha 500 µl yıkama tamponu eklendikten sonra 10000 g'de 30 saniye santrifüj edildi.
8.	Santrifüj sonrası kolon yeni tüpe aktarıldı, altta kalan kısım atıldı.
9.	Tüp içerisine 500 µl yıkama tamponu eklendi ve 10000 g'de 30 saniye santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kolon tüpüne aktarıldı ve yıkama tüpü atıldı.
10.	Kolonlu tüpe 40-50 µl elüsyon tamponu eklendi.
11.	Oda ısısında 1 dakika inkübasyona bırakıldı daha sonra 10000 g'de 2 dakika santrifüj edildi.
12.	Santrifüj sonrası kalan genomik DNA + 4 °C'de yada – 20 °C'de saklanmak üzere kaldırıldı.

### 3.5.1.2. İzole edilen DNA'ların Konsantrasyonun ve Kalitesinin Ölçülmesi

İzole edilen DNA'ların konsantrasyonları ve kalitelerinin tayini spektrofotometrik ölçümlerle yapıldı. Teorik olarak 50 µg/ml çift iplikçikli DNA içeriğine sahip olan bir DNA çözeltisi 260 nm dalga boyunda 1 optik dansiteye (OD) sahiptir. Aynı zamanda izole edilen DNA'ların konsantrasyonunu yüksek olması nedeniyle spektroskopik ölçüm yapılmadan önce seyreltme işlemi yapılarak optik dansite ölçümü yapılır. Buna göre izole edilen DNA'ların konsantrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{DNA Konsantrasyonu} = \text{OD}_{260} \times 50\mu\text{g/ml} \times \text{Seyreltme Oranı}$$

İzole edilen DNA örneklerinin kalitesi-saflığı  $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$  oranıyla belirlendi. Buna göre bu oran yaklaşık 1,8'e eşit ise izole edilen DNA'ların yeterince iyi saflıkta olduğu kabul edildi. Eğer bu oran 1,8'den küçük ise ortamda fenol veya protein varlığını gösteriyorken oranın 2'den büyük olması ortamda RNA varlığını göstermektedir.

### 3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yöntemi ile Genlerin Çoğaltılması

#### 3.7.2.1 VDR Genindeki rs: 2228570 ve rs: 731236 ile VDBP Geninde rs: 7041 Polimorfizmlerin Çoğaltılmasında kullanılan Primer dizileri Dizayn Edilmesi

İlgili gen bölgelerinin amplifikasyonunda kullanılan primerlerin nükleotid dizisi Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.1** PZR işleminde kullanılacak primerler

Gen Adı SNP	Primer Yönü	Primer Dizileri
VDR rs:2228570	İleri	5’-GATGCCAGCTGGCCCTGGCACTG-3’
	Geri	5’-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3’
VDR rs:731236	İleri	5’-CAGAGCATGGACAGGGAGCAAG-3’
	Geri	5’-GCAACTCCTCATGGGCTGAGGTCTCA-3’
VDBP rs:7041	İleri	5’-AAATAATGAGCAAATGAAAGAAGAC-3’
	Geri	5’-TCTACTCATTCTTTGCTGTTATTG-3’

#### 3.5.2.2. PZR Karışımının Hazırlanışı

DNA izolasyonu işleminden sonra izole edilen DNA örneklerinde VDR genine ait olan rs:2228570 ve rs:731236 ile VDBP genine ait olan rs:7041 polimorfizmlerinin tespitinde primer olarak Tablo 3.1’deki primerler kullanılarak, Tablo 3.2’deki PZR karışımları hazırlandıktan sonra Tablo 3.3 ve 3.4’deki PZR şartları uygulanarak ilgili polimorfizmlerin DNA’ları PZR yöntemiyle çoğaltıldı.

**Tablo 3.2** VDR rs: 2228570 ile rs: 731236 ve VDBP rs: 7041 polimorfizmlerinin PZR Karışımlarının hazırlanışı

Sıra	PZR Karışımı	rs: 2228570 / rs:731236 polimorfizmi Miktar (µl)	PZR Karışımı	rs:7041 polimorfizmi Miktar (µl)
1	dH <sub>2</sub> O	16,45	dH <sub>2</sub> O	17,3

2	MgCl <sub>2</sub>	2,5	Mg <sup>2+</sup> Tampon	2,5
3	MgFree (Tampon)	1	dNTP	2
4	dNTP	1,5	Primer	2 (10pM)
5	Primer	1,5 (10pM)	Taq DNA Polimeraz	0,2
6	Taq DNA Polimeraz	0,3	DNA	1
7	DNA	1	-	-

### 3.5.2.3. PZR Şartları

**Tablo 3.3** VDR rs: 2228570 ve rs: 731236 polimorfizmleri için PZR işleminde uygulanan protokol

Sıcaklık	rs: 2228570 / rs:731236 polimorfizmleri Süre
96 °C	1 dakika
94 °C	1 saniye
60 °C	45 saniye
72 °C	45 saniye
	35 döngü
72 °C	5 dakika
4 °C	∞

**Tablo 3.4** VDBP rs: 7041 Polimorfizmi için PZR işleminde uygulanan protokol

Sıcaklık	rs: 7041 polimorfizmi Süre
94 °C	1 dakika
94 °C	1 saniye
58 °C	45 saniye
72 °C	45 saniye
72 °C	5 dakika

} 35 döngü

### 3.5.3. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi İle DNA Bantlarının Görüntülenmesi

PZR yöntemi ile amplifiye olan ilgili genlere ait DNA bölgelerinin amplifiye olup olmadığını kontrol etmek için %2'lik agaroz jel hazırlanarak aşağıdaki protokele göre DNA örnekleri jele yüklendi.

#### 3.5.3.1. %2'lik Agaroz Jelin Hazırlanması ve PZR Ürünlerinin Jele Yükleneşi

✚ %2'lik agaroz jel aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı.

1.	4 g agaroz tartılarak erlenin içine boşaltıldı. Üzerine 200 ml 1X TBE tampon çözeltisinden eklendi erlen mikro dalga fırında kaynatma yolu ile çözündürüldü.
2.	Erlenin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde (50-55°C ) TBE tampon çözeltide çözülmüş olan agaroz jelin içine 4 µl etidyum bromür (10mg/ml) eklendi ve çok yavaş bir şekilde erlen çalkalanarak etidyum bromürün karışması sağlandı.
3.	Hazırlanan agaroz jel çözeltisi yatay olarak jel yatağının içine döküldü ve yükleme kuyucuklarının oluşması için tarak dikkatlice yerleştirilerek jel donmaya bırakıldı.

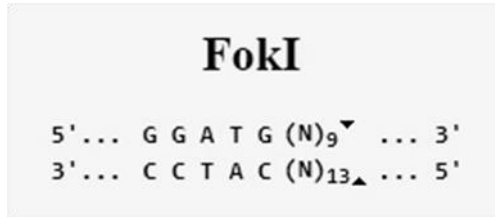
4.	Jel donduktan sonra tarak dikkallice çıkarıldı. Böylece, hazırlanan jel örnek yüklenmesi için hazır hale getirildi.
	✚ Hazırlanan %2'lik agaroz jele PCR ürünlerinin yüklenmesi işleminde aşağıdaki sıra takip edildi.
5.	Hazır hale gelen %2'lik agaroz jel 1X TBE tampon çözeltisi içeren jel tankı içine uygun şekilde konuldu.
6.	Agaroz jelin üzerine havayla temasını kapatacak şekilde 1X TBE tamponu eklendi.
7.	7 µl PCR ürünü ile 3 µl yükleme tamponunun (6X) pipetleme yapılarak karıştırılmasıyla oluşan 10 µl'lik örnek karışımı kuyucuklara sırasıyla yüklendi.
8.	Yükleme işlemi bittikten sonra jel tankının kapağı kapatıldı. Güç kaynağı (E-C apparatus Corporation, E-C4000P) 250 miliamper 120 volt elektrik gücüne ayarlanarak jel elektroforezi deneyi başlatıldı.
9.	Yürütme işlemi bittikten sonra PZR ürünlerinin jeldeki görüntüleri ve fotoğrafları UV (304 nm dalga boyunda) ışık altında UV transillüminator cihazı ile çekildi.
10.	PZR reaksiyonları sonucu VDR geninde FokI rs: 2228570 ve TaqI rs: 731236 ile VDBP geninde rs: 7041 varyasyonları sırasıyla 272 bp, 347 bp, 482 bp'lik PZR ürünleri görüntülendi (Şekil 3-2, 3-4,3-6).

#### **3.5.4. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi) Yöntemi Kullanılarak VDR-FokI (rs: 2228570) ile VDR-TaqI (rs: 731236) ve VDBP-HaeIII (rs: 7041) Genlerine ait olan Polimorfizmlerin Tespit Edilmesi**

PZR ürünleri agaroz jel elektroforez yöntemiyle kontrol edildikten sonra RFLP yönteminin uygulanması için araştırılacak olan polimorfizmlere en uygun restriksiyon protokolleri kullanılarak optimal sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakıldıktan sonra kesim ürünleri %2'lik agaroz jele yüklenerek 120 Voltta yürütülerek ilgili polimorfizmler tespit edildi.

### 3.5.4.1. VDR-FokI rs: 2228570 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Tespit Edilmesi

VDR geninin amplifikasyonu sonucu oluşan PZR ürünlerinde VDR-FokI rs: 2228570 polimorfizminin belirlenmesi için kullanılan FokI restriksiyon kesim enzimi 55°C’de 2 saat DNA ile inkübasyona bırakıldı. FokI restriksiyon enzimi, DNA’yı Şekil 3.1’de gösterilen nükleotit bölgelerinden keser.



**Şekil 3.1.** FokI enzimine ait restriksiyon bölgesi.

Restriksiyon kesim işlemi sırasında kullanılan kimyasallar ve miktarları Tablo 3.5’de belirtilmiştir. FokI enzimi ile yapılan DNA kesimi sonrasında oluşan DNA bantları Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.5** FokI restriksiyon kesim enzimi için hazırlanan çözelti

KİMYASALLAR	HACİM
Su	8 µl
Tampon	2,5 µl
Enzim (FokI)	0,2 µl
PCR ürünü	5 µl

Yürüme Yönü	Normal Homozigot	Mutant Homozigot	Mutant Heterozigot
↓	FF	ff	Ff
Yükleme Kuyusu	[ ]	[ ]	[ ]

272 bç			
198 bç			
74 bç			

**Şekil 3.2.** FokI restriksiyon kesim enzimine ait DNA bantları.

### 3.5.4.2. VDR-TaqI rs:731236 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Tespit Edilmesi

VDR geninin amplifikasyonu sonucu oluşan PZR ürünlerinde VDR-TaqI rs:731236 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan TaqI restriksiyon kesim enzimi ile 65°C’de 15 dk. inkübasyona bırakıldı. TaqI restriksiyon enzimi DNA’yı Şekil 3.3’de gösterilen nükleotit bölgelerinden keser.



**Şekil 3.3.** TaqI enzimine ait restriksiyon bölgesi.

Restriksiyon kesim işlemi sırasında kullanılan kimyasallar ve miktarları Tablo 3.6’da belirtilmiştir. TaqI enzimi ile yapılan DNA kesimi sonrasında oluşan DNA bantları Şekil 3.4’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.6** TaqI restriksiyon kesim enzimi için hazırlanan çözelti

KİMYASALLAR	HACİM
Su	6 µl
Tampon	1 µl
Enzim (TaqI)	0,5 µl

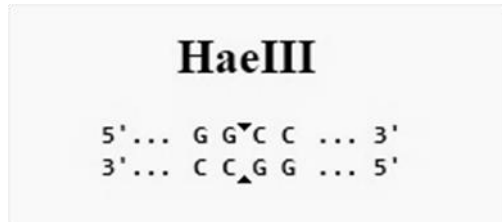


PCR ürünü		4 µl	
<b>Yürüme Yönü</b> ↓	<b>Normal Homozigot</b> <b>TT</b>	<b>Mutant Heterozigot</b> <b>Tt</b>	<b>Mutant Homozigot</b> <b>tt</b>
<b>Yükleme Kuyusu</b>			
<b>347 bç</b>			
<b>293 bç</b>			
<b>54 bç</b>			

Şekil 3.4. TaqI restriksiyon kesim enzimine ait DNA bantları.

### 3.5.4.3. VDBP rs:7041 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Tespit Edilmesi

VDBP geninin amplifikasyonu sonucu oluşan PZR ürünlerinde VDBP-HaeIII rs:7041 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan HaeIII restriksiyon kesim enzimi ile 37°C'de 1 gece inkübasyona bırakıldı. HaeIII restriksiyon enzimi DNA'yı Şekil 3.5'da gösterilen nükleotit bölgelerinden keser.



Şekil 3.5. HaeIII enzimine ait restriksiyon bölgesi.

Restriksiyon kesim işlemi sırasında kullanılan kimyasallar ve miktarları Tablo 3.7’de belirtilmiştir. HaeIII enzimi ile yapılan DNA kesimi sonrasında oluşan DNA bantları Şekil 3.6’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.7** HaeIII restriksiyon kesim enzimi için hazırlanan çözelti

KİMYASALLAR	HACİM
Su	6 µl
Tampon	1 µl
Enzim (HaeIII)	1 µl
PCR ürünü	5 µl

Yürüme Yönü ↓	Normal Homozigot TT	Mutant Homozigot GG	Mutant Heterozigot TG
Yükleme Kuyusu			
482 bç			
298 bç			
184 bç			

**Şekil 3.6.** HaeIII restriksiyon kesim enzimine ait DNA bantları.

### 3.5.5. HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) Yöntemiyle Serum D Vitamini Seviyelerinin Ölçülmesi

D vitamini miktarının belirlenmesinde kullanılan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) birçok çalışmada (Enko vd., 2014; Grudet vd., 2014) D vitamini ölçümünde güvenilir bir yöntem olarak belirtilmiştir. Çalışmamızdaki hasta örneklerine ait serum D vitamini düzeylerinin ölçümünde Ultraviyole (UV) dedektöre sahip HPLC cihazı ile bu yöntem için uygun olan D vitamini ölçüm kiti (Reagent kit for HPLC analysis of 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub>/D<sub>2</sub> in serum/plasma, ChromogenGrafelfing, Almanya) kullanıldı.

#### 3.5.5.1. HPLC Yöntemi için Serum Örneklerinin Hazırlanması

HPLC yöntemi için serum örnekleri aşağıdaki sıraya göre hazırlandı.

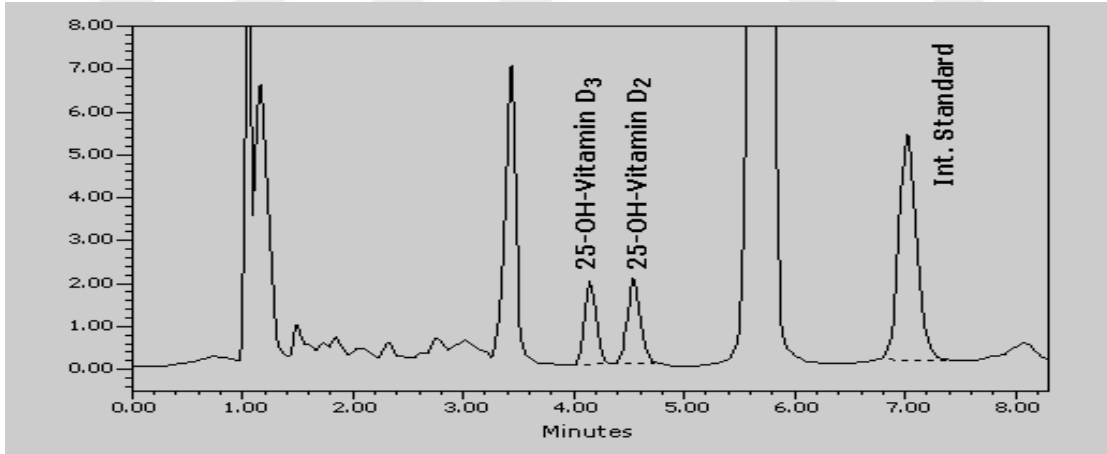
1.	Hem kuru tüplere alınan taze kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrılmış (3000-3500 rpm'de 5-10 dakika) olan, hem de çalışma kapsamındaki daha önce serum izolasyonu yapılmış olan -80 °C'deki serum örneklerine aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır.
2.	500 µl serum örneği 1,5 mL'lik tüp içine alındıktan sonra üzerine 50 µl iç standart eklendi.
3.	Yukarıdaki karışıma 500 µl çöktürme çözeltisi ilave edildi, 20 sn. vorteks de karıştırıldı ve +4 °C'de 10 dk. bekletildi. Ardından 13000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildi.
4.	Santrifüj işlemi sonrası süpernatant (üst kısım), katı faz ekstraksiyon (SPE) kolonuna alındı ve SPE manifoldtan geçirilerek D vitamininin kolonda tutulması sağlandı.
5.	Kolon içerisindeki örnekler sırasıyla yıkama tamponu 1 ile 2 kez, yıkama tamponu 2 ile 1 kere yıkanarak D vitamini safsızlıklardan temizlenmiş oldu.
6.	Kolonda tutulmuş olan D vitamininin kolonun çıkışında toplanması için kolon çıkışına 1,5 mL'lik tüpler yerleştirildi. Daha sonra kolondan SPE manifold yardımıyla 200 µl elüsyon tamponu (kolondan D vitaminini sıyıma tamponu) geçirildi.
7.	Toplanan fraksiyonların üzerine 20 µl distile su eklenerek numuneler seyreltilerek analize hazır hale getirildi.

### 3.5.5.2. HPLC Sistemi

Çift kanallı gaz giderici, basınç algılayıcı pompa, manuel enjeksiyon ve UV detektöre sahip olan HPLC sistemi ile C 18 (250 x 4,6 mm i.d.:5 µm parçacık boyutlu) analitik kolonu kullanılarak serumdaki 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub> ve D<sub>2</sub> miktarları ölçülmüştür.

**Tablo 3.8** 25-OH Vitamin D<sub>3</sub>/D<sub>2</sub> ölçümünün HPLC Şartları

<b>Yöntem</b>	HPLC Ters Faz İzokritik
<b>Analitik Kolon</b>	C-18, 250 mm x 4,6 mm, 5 µm
<b>Kolon Sıcaklığı</b>	25 °C
<b>Akış Hızı</b>	0,7 mL/dk
<b>Dedektör</b>	UV
<b>Dalga Boyu</b>	265 nm
<b>Enjeksiyon Hacmi</b>	25 µL
<b>Analiz Süresi</b>	12 dk



**Şekil 3.7.** HPLC yöntemi ile 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub>/D<sub>2</sub> ölçümüne ait elde edilen kromatogram örneğinde görüldüğü gibi 25-OH vitamin D<sub>3</sub> piki 25-OH vitamin D<sub>2</sub> pikine göre kolondan daha önce çıkmaktadır. Farklı retansiyon zamanına (RT; kolonda alıkonma zamanı) sahip olmaları nedeniyle bu yöntemle hem vitamin D<sub>3</sub> hem de vitamin D<sub>2</sub>'yi ayrı ayrı ölçebilmektedir. Piklerin altında kalan alan D<sub>3</sub> ve D<sub>2</sub> miktarları ile doğru orantılı olarak değiştiğinden yöntemde miktarsal (nicel) analiz de yapılabilmektedir.

HPLC yöntemi ile yapılan analizlerde kesin ve doğru ölçümler yapabilmek için her çalışma öncesinde günlük ve gün-içi kalibrasyon yapılmıştır. Bu amaçla, 2 seviyeli pozitif kalite kontrol örnekleriyle (0028 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub>/D<sub>2</sub> Bi-level control, ChromogenGrafelfing, Almanya) kalibrasyon grafiği elde edilmiş ve ardından hasta örneklerinin analizi yapılmıştır.

### **3.6. Verilerin Değerlendirilmesi**

SPSS 21.0 Paket Programı kullanılarak, sonuçlar sürekli değişkenler için ortanca (median) ve ortalama standart sapma olarak, kategorik değişkenler için frekans ve yüzde şeklinde verildi. Genotip ve allelerin görülme sıklığının gruplar arası farklılıklarının değerlendirilmesinde Ki Kare ( $\chi^2$ ) testi ile Fisher'in kesin olasılık (Fischer's exact) testi, biyokimyasal aktivite üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için ise Mann Whitney - U testi kullanıldı. Allel frekansları gen sayma metoduna göre yapıldı. İstatiksel anlamlılık sınırı  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

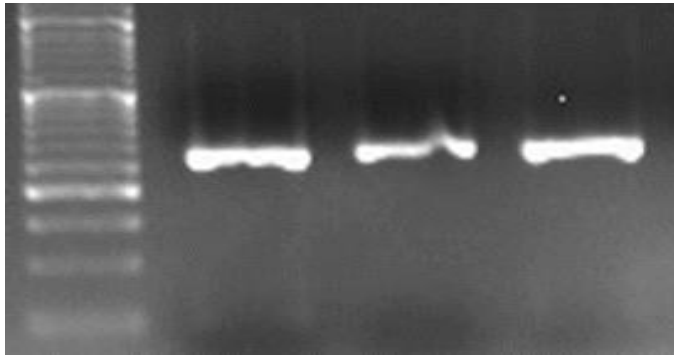
## 4. BULGULAR

Çalışmamız iki gruptan oluşmakta olup, birinci grubu oluşturan hasta grubu İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından takip edilen ve beyin kanseri tanısı konmuş 71 adet gönüllü hasta bireyden oluşurken kontrol grubunu oluşturan ikinci grup ise herhangi bir malignite bulgusu bulunmayan ve tercihen ailede kanser hikayesi olmayan 84 adet sağlıklı bireyden oluşmaktadır. Çalışmamıza katılan tüm bireylerden Bilgilendirilmiş Olur Formu (BGOF) kapsamında bilgilendirmeler yapıldıktan sonra BGOF formları imzalatılmıştır.

### 4.1. PZR Ürünlerinin Kontrolüne İlişkin Bulgular

#### 4.1.1. VDR Geninin rs: 2228570'e Ait PZR Ürünlerinin Bulguları

VDR genine ait olan rs: 2228570 polimorfizminin tespiti için kullanılacak olan ilgili gen bölgelerine ait PZR ürünlerinin amplifiye olup olmadığının kontrolü, %2'lik agaroz jelde yürütülerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, agaroz jele yüklenen PZR ürünleri 120 voltta yürütüldükten sonra amplifiye olan 272 bp'lik DNA bantlarının UV ışık altındaki görüntüleri Şekil 4.1'deki gibi görüntülendi.

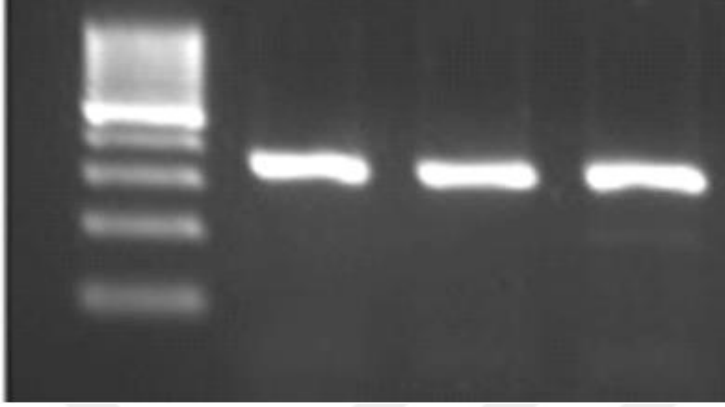


**Şekil 4.1.** VDR genine ait rs: 2228570 PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. Şekilde 50 bp'lik belirteç (marker) kullanılmıştır.

#### 4.1.2. VDR Geninin rs: 731236'ya Ait PZR Ürünlerinin Bulguları

VDR genine ait olan rs: 731236 polimorfizminin tespiti için kullanılacak olan ilgili gen bölgelerine ait PZR ürünlerinin amplifiye olup olmadığının kontrolü, %2'lik

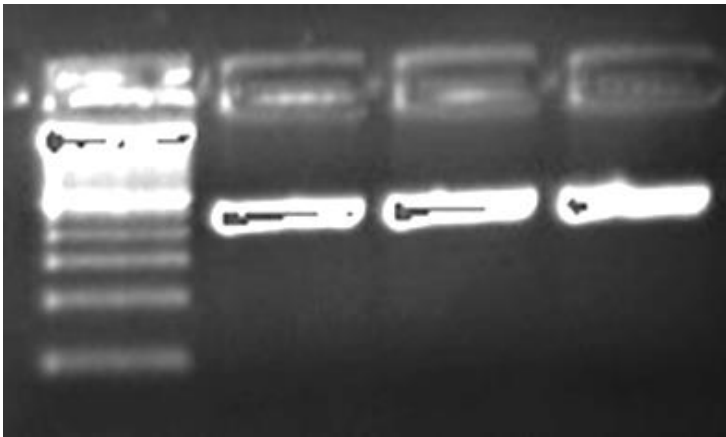
agaroz jelde yürütülerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, agaroz jele yüklenen PZR ürünleri 120 voltta yürütüldükten sonra amplifiye olan 347 bç'lik DNA bantlarının UV ışık altındaki görüntüleri Şekil 4.2'deki gibi görüntülendi.



**Şekil 4.2.** VDR genine ait rs: 731236 PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. Şekilde 100 bç'lik belirteç (marker) kullanılmıştır.

#### 4.1.3. VDBP Geninin rs: 7041'e Ait PZR Ürünlerinin Bulguları

VDR genine ait olan rs: 7041 polimorfizminin tespiti için kullanılacak olan ilgili gen bölgelerine ait PZR ürünlerinin amplifiye olup olmadığının kontrolü, %2'lik agaroz jelde yürütülerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, agaroz jele yüklenen PZR ürünleri 120 voltta yürütüldükten sonra amplifiye olan 482 bç'lik DNA bantlarının UV ışık altındaki görüntüleri Şekil 4.3'deki gibi görüntülendi.



**Şekil 4.3.** VDBP genine ait rs: 7041 PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. Şekilde 100 bç'lik belirteç (marker) kullanılmıştır.

## 4.2. PZR-RFLP Yöntemine İlişkin Bulgular

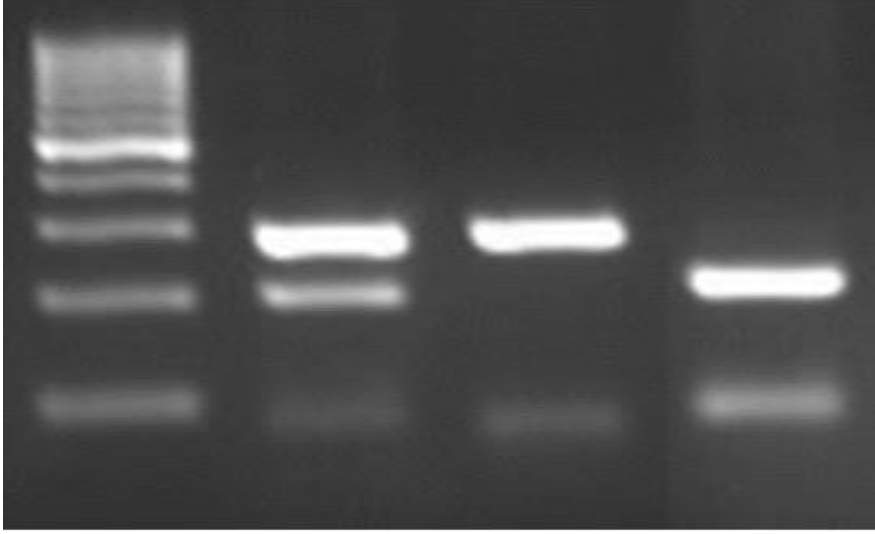
### 4.2.1. VDR rs: 2228570, VDR rs: 731236 ve VDBP rs: 7041 Polimorfizmlerinin PZR-RFLP Yöntemine Ait Bulguları

%2'lik agaroz jel elektroforez yöntemiyle amplifiye olduğu tespit edilmiş olan PZR ürünleri FokI, TaqI ve HaeIII restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesim işlemi uygulandı. Kesim işlemi sonrasında oluşan DNA parçalarını tespit etmek için %2'lik agaroz jel elektroforez yöntemi uygulanarak polimorfizmlere ait genotip değerlendirmeleri Tablo 4.1'de gösterildiği gibi yapıldı. Üç polimorfizm'e ait olan PZR-RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

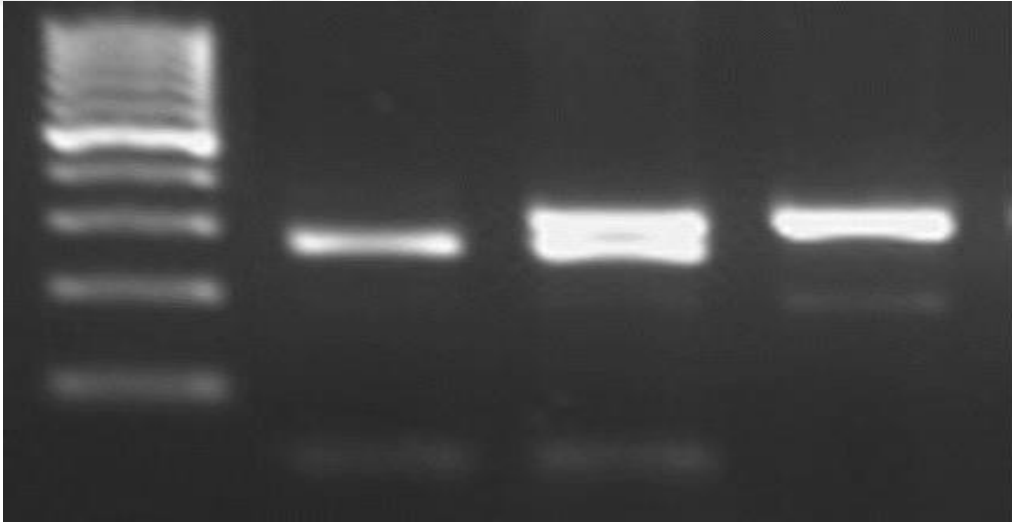
**Tablo 4.1** Restriksiyon Kesim Enzimi İle Geneotipin Tespit Edilmesi

Gen Adı SNP	Kesim Enzimi	PZR Ürünü-Bç	PZR-RFLP Ürünü - Bç	Genotip Cinsi		
VDR rs:2228570	FokI	272	272	FF	Normal	Homozigot
			198+74	ff	Mutant	Homozigot
			272 + 198 + 74	Ff	Mutant	Heterozigot
VDR rs:731236	TaqI	347	347	TT	Normal	Homozigot
			293 + 54	tt	Mutant	Homozigot
			347+293 + 54	Tt	Mutant	Heterozigot
VDBP rs:7041	HaeIII	482	482	TT	Normal	Homozigot
			298 +184	GG	Mutant	Homozigot
			482 + 298 + 184	TG	Mutant	Heterozigot

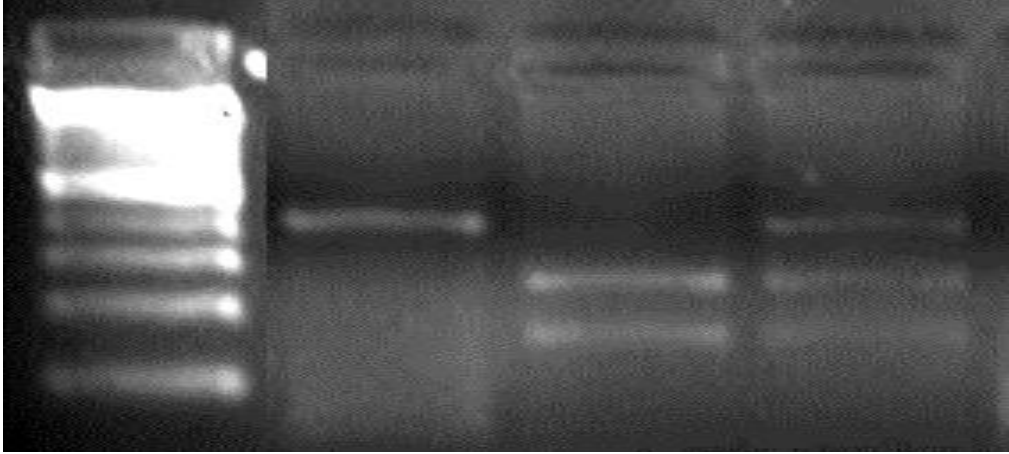




**Şekil 4.4.** VDR genine ait rs: 2228570 PZR-RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. Şekilde jeldeki ilk kuyu 100 bç'lik belirteç (marker) olup, diğer 3 kuyu çalışma gruplarından rastgele seçilen örnekleri temsil etmektedir. 3. kuyu FF, homozigot yabanıl genotipi (272 bç); 4. kuyu ff, homozigot mutant genotipi (198+74 bç); 2. kuyu Ff, heterozigot mutant genotipi göstermektedir.



**Şekil 4.5.** VDR genine ait rs: 731236 PZR-RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. Şekilde jeldeki ilk kuyu 100 bç'lik belirteç (marker) olup, diğer 3 kuyu çalışma gruplarından rastgele seçilen örnekleri temsil etmektedir. 4. kuyu TT, homozigot yabanıl genotipi (347 bç); 2. kuyu tt, homozigot mutant genotipi (293+54 bç); 3. kuyular Tt, heterozigot mutant genotipi göstermektedir.



**Şekil 4.6.** VDBP genine ait rs: 7041 PZR-RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü, Şekilde jeldeki ilk kuyu 100 bç'lik belirteç (marker) olup, diğer 3 kuyu çalışma gruplarından rastgele seçilen örnekleri temsil etmektedir. 2. Kuyu TT, homozigot yabancı genotipi (482 bç); 3. kuyular GG, homozigot mutant genotipi (298+184 bç); 4. kuyu TG, heterozigot mutant genotipi göstermektedir.

### 4.3. İstatistiksel Analiz Sonrası Bulguları

Çalışmamıza dahil olan toplam 155 katılımcıdan 84'ü sağlıklı kontrol grubunu, 71'i primer beyin kanseri tanısı konulmuş hasta grubunu oluşturmaktadır. Çalışma gruplarında cinsiyet dağılımları incelendiğinde, kontrol grubu 53 kadın (% 63,1) ve 31 erkek (% 36,9) bireyden, hasta grubu ise 35 kadın (% 49,3) ve 36 erkek (% 50,7) bireyden oluşmaktadır. Kontrol ve hasta grupları arasındaki yaş ortalamaları sırasıyla  $41,86 \pm 11,37$  ve  $42,96 \pm 15,76$  olarak bulunmuştur. Kontrol ve hasta gruplarında cinsiyet ( $p > 0,05$ ) ve yaş ( $p > 0,05$ ) dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılıkların olmaması, çalışma grubunun uyumlu olduğunu göstermektedir.

Primer beyin tümörlerini oluşturan gliom hastaları ile meningiom hastalarının oluşturduğu hasta grubu ile kontrol grubuna ait yaş, cinsiyet, D vitamini seviyesi, tümör histolojisi, tümör seviyesi, tümörün yeri, patolojik nekroz ve vasküler endotel proliferasyonu ile ilgili bilgiler Tablo 4.2'de yer almaktadır.

**Tablo 4.2** Çalışma gruplarının karakteristik özellikleri

Karakteristik Özellikler		Gruplar (Katılımcı Sayısı n=155)			
		Kontrol (n=84)	Primer Beyin Tümörleri Hasta (n=71)	Gliom	Meningiom
<b>Cinsiyet</b> n (%)	Kadın	53 (% 63,1)	35 (% 49,3)	21 (% 51,2)	14 (% 46,7)
	Erkek	31 (% 36,9)	36 (% 50,7)	20 (% 48,8)	16 (% 53,3)
<b>Yaş</b>	Ortalama (Yıl)	41,86 ± 11,37	42,96 ± 15,76	38,82 ± 15,31	48,24 ± 14,97
<b>D Vitamini Seviyesi</b>	25-(OH)D (ng/mL)	14,10 ± 9,42	14,95 ± 7,54	14,69 ± 8,41	15,29 ± 6,46
<b>Tümör Histolojisi</b> n (%)	Astrocitoma	-	-	22 (% 64,7)	-
	Oligoastrocitoma	-	-	3 (% 8,8)	-
	Oligodendrogliom	-	-	9 (% 26,5)	-
<b>Tümör Seviyesi</b> n (%)	Grade I	-	-	5 (% 14,7)	6 (% 27,3)
	Grade II	-	-	13 (% 38,2)	4 (% 18,2)
	Grade III	-	-	8 (% 23,5)	3 (% 13,6)
	Grade IV	-	-	8 (% 23,5)	-
<b>Tümör Yeri</b> n (%)	Sağ Hemifer	-	-	16 (% 51,6)	8 (% 50)
	Sol Hemisfer	-	-	15 (% 48,4)	6 (% 37,5)
	Orta Hat	-	-	-	2 (% 12,5)
<b>Nekroz Patolojisi</b> n (%)	Var	-	-	9 (% 52,9)	-
	Yok	-	-	8 (% 47,1)	-
<b>Vasküler Endotel Proliferasyon</b> n (%)	Var	-	-	15 (% 78,9)	-
	Yok	-	-	4 (% 21,1)	-

n, kişi sayısı; p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tabloda X+SD olarak verilen değerlerin gruplar arasındaki farklılıkları Mann Whitney - U testi ile incelenmiştir (X: Ortalama, SD: Standart sapma). Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.

VDR-FokI polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı Tablo 4.3’de verilmiştir. VDR-FokI polimorfizmi için RFLP sonuçları değerlendirildiğinde, primer beyin kanseri, gliom ve meningiom hastalarıyla kontrol grubu arasında genotip ve allel frekansı dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir. Sırasıyla genotip dağılımına ait  $p$  değerleri primer beyin kanseri için ( $p= 0,915$ ,  $p= 0,714$ ), gliom için ( $p=0,863$ ,  $p= 0,645$ ), meningiom için ( $p=0,707$ ,  $p=0,946$ ) (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** Gruplar arasında VDR-FokI polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı

Gen ve Polimorfizm Tipi	Genotip ve Allel Tipi	Kontrol (n=84)		Primer Beyin Tümörleri (n=71)			Gliom (n=41)			Meningiom (n=30)		
		n	%	n	%	$p$	n	%	$p$	n	%	$p$
VDR- FokI rs: 2228570	FF	41	48,8	37	52,1	0,915	21	51,2	0,863	16	53,3	0,707
	Ff	32	38,1	25	35,2		16	39		9	30	
	ff	11	13,1	9	12,7		4	9,8		5	16,7	
	F Alleli	114	67,86	99	69,72	0,724	58	70,73	0,645	41	68,3	0,946
	f Alleli	54	32,14	43	30,28		24	29,3		19	31,17	

n, kişi sayısı;  $p$ , hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.\* $p<0,05$

VDR-TaqI polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı Tablo 4.4’de verilmiştir. VDR-TaqI polimorfizmi için RFLP sonuçları değerlendirildiğinde, primer beyin kanseri, gliom ve meningiom hastalarıyla kontrol grubu arasında genotip ve allel frekansı dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir. Sırasıyla genotip dağılımına ait  $p$  değerleri primer beyin kanseri için ( $p=0,879$ ,  $p=0,630$ ), gliom için ( $p=0,746$ ,  $p=0,549$ ), meningiom için ( $p=0,954$ ,  $p=0,897$ ) (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4** Gruplar arasında VDR-TaqI polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı

Gen ve Polimorfizm Tipi	Genotip ve Allel Tipi	Kontrol (n=84)		Primer Beyin Tümörleri (n=71)			Gliom (n=41)			Meningiom (n=30)		
		n	%	n	%	<i>p</i>	n	%	<i>p</i>	n	%	<i>p</i>
VDR-TaqI rs: 731236	TT	31	36,9	29	40,8	0,879	18	43,9	0,746	11	36,7	0,954
	Tt	40	47,6	32	45,1		17	41,5		15	50	
	tt	13	15,5	10	14,1		6	14,6		4	13,3	
	T Alleli	102	60,71	90	63,38	0,630	53	64,6	0,549	37	61,7	0,897
	t Alleli	66	39,29	52	36,62		29	35,4		23	38,3	

n, kişi sayısı; *p*, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.\* $p<0,05$

VDBP rs:7041 polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı Tablo 4.5’de verilmiştir. VDBP rs:7041 polimorfizmi için RFLP sonuçları değerlendirildiğinde, primer beyin kanseri, gliom ve meningiom hastalarıyla kontrol grubu arasında genotip ve allel frekansı dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir. Sırasıyla genotip dağılımına ait *p* değerleri primer beyin kanseri için ( $p=0,931$ ,  $p=0,766$ ), gliom için ( $p=0,671$ ,  $p=0,429$ ), meningiom için ( $p=0,808$ ,  $p=0,661$ ) (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5** Gruplar arasında VDBP rs:7041 polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının dağılımı

Gen ve Polimorfizm Tipi	Genotip ve Allel Tipi	Kontrol (n=84)		Primer Beyin Tümörleri (n=71)			Gliom (n=41)			Meningiom (n=30)		
		n	%	n	%	<i>p</i>	n	%	<i>p</i>	n	%	<i>P</i>
VDBP rs: 7041	TT	9	10,7	8	11,3	0,931	6	14,6	0,671	2	6,7	0,808
	TG	49	58,3	43	60,6		25	61		18	60	
	GG	26	31	20	28,2		10	24,4		10	33,3	
	T Alleli	67	39,88	59	41,55	0,766	37	45,12	0,429	22	36,7	0,661
	G Alleli	101	60,12	83	58,45		45	54,88		38	63,3	

n, kişi sayısı; p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.\* $p<0,05$

VDR FokI, TaqI ve VDBP polimorfizmleri ile tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon gibi klinik parametreler arasındaki ilişki Tablo 4.6, 4.7 ve 4.8'de gösterilmiştir.

VDR-FokI polimorfizmine ait genotip dağılımı primer beyin tümörleri, gliom ve meningiom hastalarının tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon üzerine değerlendirildiğinde istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık tespit edilmemiştir. Sırasıyla genotip dağılımına ait *p* değerleri tümör histolojisi için ( $p=0,529$ ), tümörün seviyesi için ( $p=0,898$ ), tümörün yeri için ( $p=0,762$ ) nekroz patolojisi için ( $p=0,637$ ), vasküler endotel proliferasyon için ( $p=0,582$ ) (Tablo 4.6).

**Tablo 4.6** Tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon üzerine VDR-FokI polimorfizmine ait genotip dağılımı

VDR-FokI rs: 2228570					
Klinik Veriler		FF	Ff	ff	p
		%	%	%	
Tümör Histolojisi	Astrositoma, Oligoastrositoma	46,2	42,3	11,5	0,529
	Oligodendrogliom	66,7	22,2	11,1	
Tümör Seviyesi	I ve II	47,1	35,3	17,6	0,898
	III ve IV	56,2	37,5	6,2	
Tümörün Yeri	Sağ Hemisfer	56,2	37,5	6,2	0,762
	Sol Hemisfer	50	35,7	14,3	
Nekroz Patolojisi	Var	44,4	55,6	-	0,637
	Yok	62,5	37,5	-	
Vasküler Endotel Proliferasyon	Var	46,7	53,3	-	0,582
	Yok	75	25	-	

n, kişi sayısı; p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.\*p<0,05.

VDR-Taql polimorfizmine ait genotip dağılımı primer beyin tümörleri, gliom ve meningiom hastalarının tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon üzerine değerlendirildiğinde istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık tespit edilmemiştir. Sırasıyla genotip frekansı dağılımına ait p değerleri tümör histolojisi için (p=0,671), tümörün seviyesi için (p=0,282),

tümörün yeri için ( $p=0,509$ ) nekroz patolojisi için ( $p=0,154$ ), vasküler endotel proliferasyon için ( $p=0,293$ ) (Tablo 4.7).

**Tablo 4.7** Tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon üzerine VDR-TaqI polimorfizmine ait genotip dağılımı

<b>VDR-TaqI rs: 731236</b>					
<b>Klinik Veriler</b>		<b>TT</b>	<b>Tt</b>	<b>tt</b>	<b>p</b>
		<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	
<b>Tümör Histolojisi</b>	Astrozitoma, Oligoastrozitoma	38,5	46,2	15,4	0,671
	Oligodendrogliom	55,6	33,3	11,1	
<b>Tümör Seviyesi</b>	I ve II	47,1	47,1	5,9	0,282
	III ve IV	31,1	43,8	25	
<b>Tümörün Yeri</b>	Sağ Hemisfer	31,2	56,2	12,2	0,509
	Sol Hemisfer	50	35,7	14,3	
<b>Nekroz Patolojisi</b>	Var	55,6	22,2	22,2	0,154
	Yok	37,5	62,5	-	
<b>Vasküler Endotel Proliferasyon</b>	Var	46,7	33,3	20	0,293
	Yok	25	75	-	

n, kişi sayısı; p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.\* $p<0,05$ .



VDBP rs:7041 polimorfizmine ait genotip dağılımı primer beyin tümörleri, gliom ve meningiom hastalarının tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon üzerine değerlendirildiğinde istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık tespit edilmemiştir. Sırasıyla genotip frekansı dağılımına ait *p* değerleri tümör histolojisi için ( $p=0,890$ ), tümörün seviyesi için ( $p=0,542$ ), tümörün yeri için ( $p=0,594$ ) nekroz patolojisi için ( $p=0,528$ ), vasküler endotel proliferasyon için ( $p=0,799$ ) (Tablo 4.8).

**Tablo 4.8** Tümör histolojisi, tümörün seviyesi, tümörün yeri, nekroz patolojisine ve vasküler endotel proliferasyon üzerine VDBP rs:7041 polimorfizmine ait genotip dağılımı

VDBP rs: 7041					
Klinik Veriler		TT	TG	GG	<i>p</i>
		%	%	%	
Tümör Histolojisi	Astrozitoma, Oligoastrozitoma	15,4	57,7	26,9	0,890
	Oligodendrogliom	11,1	66,7	22,2	
Tümör Seviyesi	I ve II	11,18	52,9	35,3	0,542
	III ve IV	18,8	62,5	18,8	
Tümörün Yeri	Sağ Hemisfer	18,8	56,2	25	0,594
	Sol Hemisfer	7,1	57,1	35,7	
Nekroz Patolojisi	Var	11,1	55,6	33,3	0,528
	Yok	25	62,5	12,5	
Vasküler Endotel Proliferasyon	Var	13,3	66,7	20	0,799
	Yok	25	50	25	

n, kişi sayısı; p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tablodaki

% ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.\* $p<0,05$ .

Meningiom hastalarındaki tümör seviyeleri ile tümör lokalizasyonuna ait VDR ile VDBP polimorfizm dağılımları Tablo 4.9, 4.10 ve 4.11’de gösterilmiştir.

VDR-FokI polimorfizminin meningiom hastalarının RFLP sonuçları tümörün seviyesi ve tümörün lokalizasyonuna göre değerlendirildiğinde, VDR-FokI genotip dağılımında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir. Sırasıyla genotip frekansı dağılımına ait  $p$  değerleri tümörün seviyesi için ( $p=0,893$ ) ve tümörün yeri için ( $p=0,869$ ) (Tablo 4.9).

**Tablo 4.9** Meningiom hastalarında tümörün seviyesi, tümörün yeri üzerine VDR-FokI polimorfizmine ait genotip dağılımı

VDR-FokI rs: 2228570 Meningiom					
Klinik Veriler		FF	Ff	ff	$p$
		%	%	%	
Tümör Seviyesi	I ve II	57,9	31,6	10,5	0,893
	III ve IV	66,7	33,3	-	
Tümörün Yeri	Sağ Hemisfer	50	37,5	12,5	0,869
	Sol Hemisfer	66,7	16,7	16,7	
	Orta Hat	50	50	-	

n, kişi sayısı; p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.\* $p<0,05$ .

VDR-TaqI polimorfizminin meningiom hastalarının RFLP sonuçları tümörün seviyesi ve tümörün yeri üzerine değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir. Sırasıyla genotip frekansı dağılımına ait  $p$  değerleri tümörün seviyesi için ( $p=0,752$ ) ve tümörün yeri için ( $p=0,764$ ) (Tablo 4.10).

**Tablo 4.10** Meningiom hastalarında tümörün seviyesi, tümörün yeri üzerine VDR-TaqI polimorfizmine ait genotip dağılımı

VDR-TaqI rs: 731236 Meningiom					
Klinik Veriler		TT	Tt	tt	$p$
		%	%	%	
Tümör Seviyesi	I ve II	31,6	52,6	15,8	0,752
	III ve IV	33,3	66,7	-	
Tümörün Yeri	Sağ Hemisfer	25	62,5	12,5	0,764
	Sol Hemisfer	16,7	66,7	16,7	
	Orta Hat	-	50	50	

n, kişi sayısı; p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.\* $p<0,05$ .

VDBP rs:7041 polimorfizminin meningiom hastalarının RFLP sonuçları tümörün seviyesi ve tümörün yeri üzerine değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir. Sırasıyla genotip frekansı dağılımına ait  $p$  değerleri tümörün seviyesi için ( $p=0,371$ ) ve tümörün yeri için ( $p=0,647$ ) (Tablo 4.11).

**Tablo 4.11** Meningiom hastalarında tümörün seviyesi, tümörün yeri üzerine VDBP rs:7041 polimorfizmine ait genotip dağılımı

VDBP rs: 7041 Meningiom					
Klinik Veriler		TT	TG	GG	p
		%	%	%	
Tümör Seviyesi	I ve II	5,3	57,9	36,8	0,371
	III ve IV	-	100	-	
Tümörün Yeri	Sağ Hemisfer	-	75	25	0,647
	Sol Hemisfer	16,7	66,7	16,7	
	Orta Hat	-	50	50	

n, kişi sayısı; p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değerini ifade etmektedir. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare ( $\chi^2$ ) ve ileri ki-kare ( $\chi^2$ ) testleri ile incelenmiştir.\* $p < 0,05$ .

Çalışma gruplarında, serum 25-(OH)D düzeyleri ölçülmüş olup ortalama değerler Tablo 4.12’de verilmiştir. 84 kişiden oluşan kontrol grubunun ortalama 25-(OH)D seviyesi  $14,10 \text{ ng/mL} \pm 9,42$  olarak ölçülürken, primer beyin kanseri hastalarının  $14,95 \text{ ng/mL} \pm 7,54$ , gliom hastalarının  $14,69 \text{ ng/mL} \pm 8,41$ , meningiom hastalarının  $15,29 \text{ ng/mL} \pm 6,46$  olarak ölçülmüştür. Primer beyin kanseri, gliom ve meningiom hastalarının kontrol grubuna karşı 25-(OH)D vitamin düzeyleri açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 4.12** Çalışma gruplarının serumdaki ortalama 25-(OH)D düzeyleri

Kriter	Kontrol (n=84)	Primer Beyin Tümörleri (n=71)	Gliom (n=41)	Meningiom (n=30)
<b>25-(OH)D Seviyesi (ng/mL)</b>	14,10 ± 9,42	14,95 ± 7,54	14,69 ± 8,41	15,29 ± 6,46

n, kişi sayısı. Tabloda X±SD olarak verilen değerlerin gruplar arasındaki farklılıkları Mann Whitney - U testi ile incelenmiştir (X: Ortalama, SD: Standart sapma).

VDR-FokI, VDR-TaqI ve VDBP rs:7041 polimorfizmleri primer beyin tümörleri, gliom ve meningiom hastalarının ve kontrol grubunun D vitamini seviyesi ile genotip dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç tespit edilmemiştir ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.13). Bununla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç olmamasına rağmen gliom hastalarında VDR-TaqI polimorfizmine ait TT genotipi ile meningiom hastalarında VDBP rs:7041 polimorfizmine ait GG genotiplerindeki D vitamini düzeyleri 20-30ng/mL arasında (yetersiz), diğer tüm polimorfizmlere ait genotiplerin ise  $< 20$  ng/mL (eksik) olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.13** VDR-FokI, VDR-TaqI ve VDBP rs: 7041 polimorfizmlerine ait genotip frekanslarına göre serum 25-(OH)D düzeyleri

Gen ve Polimorfizm Tipi	Genotip Tipi	Serum 25-(OH)D Seviyesi			
		Kontrol (n=84)	Primer Beyin Tümörleri Hasta (n=71)	Gliom (n=41)	Meningiom (n=30)
<b>VDR- FokI</b> rs: 2228570	FF	14,84 ± 12,19	14,66 ± 6,36	14,98 ± 6,92	14,24 ± 6,08
	Ff	14,30 ± 7,28	14,81 ± 8,22	13,79 ± 9,71	16,44 ± 5,66
	ff	11,66 ± 6,91	16,56 ± 11,40	17,01 ± 14,58	16,10 ± 13,29
<b>VDR-TaqI</b> rs: 731236	TT	11,32 ± 5,99	18,89 ± 9,22	<b>21,83 ± 14,08</b>	16,68 ± 4,75
	Tt	15,17 ± 11,52	13,38 ± 6,38	12,98 ± 6,36	13,93 ± 6,80
	tt	14,58 ± 4,79	15,25 ± 8,38	14,17 ± 8,47	17,94 ± 10,70
<b>VDBP</b> rs: 7041	TT	15,92 ± 7,46	14,02 ± 6,55	14,89 ± 7,73	11,38
	TG	13,50 ± 11,09	14,20 ± 8,12	14,87 ± 9,46	13,23 ± 6,09
	GG	14,63 ± 6,95	17,82 ± 6,23	13,71 ± 6,24	<b>20,91 ± 4,69</b>

n, kişi sayısı. Tabloda X±SD olarak verilen değerlerin gruplar arasındaki farklılıkları Mann Whitney - U testi ile incelenmiştir (X: Ortalama, SD: Standart sapma).

## 5. TARTIŞMA

2012 yılı itibariyle dünyada kanser nedeni ile ölüm sayısı 14 milyonu aşarken, günümüzde kanserli hasta mortalite oranında da artış görülmektedir (119). Dünyada 2012 yılında kanser ile ilgili yapılan istatistiksel çalışmalarda nüfusun %1,8'inin beyin kanseri teşhisi almış olduğu ve kansere bağlı ölüm oranının % 2,3 olduğu belirtilmiştir (3). Türkiye'de 2014 yılında kanser ile ilgili yapılan istatistiksel bir araştırmada ise en sık görülen kanserlerin %2'sini beyin kanserlerinin oluşturduğu belirtilmiştir (84). 20 ile 40 yaş arasındaki erkeklerde kanser nedeniyle ölümlerde beyin tümörleri ikinci sırada yer almaktadır (87, 88). Yapılan çalışmalarda, primer beyin tümörlerinin oluşumuna neyin neden olduğu tam olarak bilinmese de genetik faktörler, toksik kimyasallar veya iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma gibi bazı çevresel faktörlerin beyin tümörü oluşumuna katkıda bulunduğu belirtilmektedir (83). 1800'lü yıllarda bulunmuş olan D vitaminin, kalsiyum dengesinin düzenlenmesi gibi önemli fonksiyonlarının yanında yaklaşık yüz yıldır kanserle olan ilişkisi de bilinmektedir (120). 2008 yılında uluslararası kanser araştırma merkezi tarafından D vitamini ve kanser arasında nedensel bağlantının kanıtını gösteren bir rapor yayımlanmıştır (121). D vitamininin hücre proliferasyonu ve farklılaşması gibi hücre fonksiyonlarını düzenleyen steroid hormonlar arasında yer aldığı kabul edilmektedir (150). Kanserli hücrelerin öldürülmesinde 1,25-(OH)<sub>2</sub>D nin hücre büyümesi ve farklılaşması üzerindeki etkisinin bulunması, tümörlü hücrelerin yayılmasını ve gelişmesinin düzenlenmesinde 1,25-(OH)<sub>2</sub>D'yi aday bir molekül haline getirmektedir (150). Yapılan çalışmalarda, D vitamininin meme, kolon, deri ve beyin gibi çeşitli dokulardaki malign hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını inhibe ettiği (150) . D vitamini depo formu olan 25-(OH)D<sub>3</sub>'ün yüksek düzeylerinin çeşitli kanser türlerinde düşük insidans ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (134-137).

Kanserli kişilerde D vitamini düzeylerinin düşük olduğunu göstermek amacıyla Liang Shi ve ark. tarafından yapılan araştırmaya göre kanser tanısı konmuş olan 1940 kişinin 25-(OH)D seviyeleri sırası ile % 23,2'sinin <30 nmol/L (<12ng/mL) (D vitamini eksik) ve % 48,4'nün 30-50 nmol/L (12-20 ng/mL) (D vitamini yetersiz) ölçülerek kanserli hastaların % 71,6'sının 25-(OH)D seviyelerinin yetersiz ve eksik olduğu gösterilmiştir (138). Bir başka çalışmada Neuhouser ve ark., Amerikada meme kanserine yakalanan hastaların %75,6'sının 25-(OH)D seviyesi  $24.8 \pm 10.4$  ng/mL

ölçerek D vitamini seviyelerinin düşük olduğunu belirtmiştir (140). D vitamini eksikliği nedeniyle kolon, göğüs, prostat ve yumurtalık kanserlerine yakalanan kişilerde düşük yaşam sürelerine de işaret edilmiştir (141-144). Prospektif ve retrospektif çalışmalara göre 25-(OH)D düzeylerinin 20 ng/ml'den düşük olması kolon, prostat ve akciğer kanserine bağlı ölümleri %20–50 oranında artırmaktadır (145-148).

Mezawa ve ark. 257 kolorektal kanser hastasıyla yapmış oldukları çalışmada % 87'sinin serum 25-(OH)D seviyesini <20 ng/mL (D vitamini yetersiz), % 3'ünün serum 25-(OH)D seviyesini  $\geq$  30 ng/mL (D vitamini yeterli) ölçtüklerini belirtmiştir (151). Atoum ve ark. Ürdün'de yapılan bir vaka kontrol çalışmasında düşük serum 25-(OH)D vitamini düzeylerinin (<10 ng/mL) kolorektal kanser riskini 19,2 kat artırabileceğini göstermiştir (152). Edward ve ark. kolorektal kanserden korunmak için optimal serum 25-(OH)D seviyesi ile ilgili yapılan bir miktarsal meta analizine göre  $\geq$ 33 ng/mL 25-(OH)D seviyesine sahip kişilerin  $\leq$ 12 ng/mL 25-(OH)D seviyesine sahip kişilere göre % 50 oranında kolorektal kanserine yakalanma riskini azaltığını belirtmiştir (153). Wu ve ark. 237 Afrikalı-Amerikalı ve 423 İspanyol meme kanseri hastası ile serum 25-(OH)D<sub>3</sub> düzeyi arasındaki ilişkiyi incelemiş ve Afrikalı-Amerikalıların % 69,2'sinin İspanyol meme kanseri hastalarının % 37,8'inin 25-(OH)D<sub>3</sub> seviyesine 20 ng/mL'nin altında olduğunu göstererek, 20 ng/mL'nin altındaki 25-(OH)D<sub>3</sub> seviyesi, hem Afrikalı-Amerikalılarda (OR = 2.5,% 95 CI = 1.3-4.8) ve İspanyollarda (OR = 1.9,% 95 CI = 1.1-3.0) meme kanseri ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu bildirmişir (154). Ögüş ve ark. Türk popülasyonunda 2012 yılı Ocak-Aralık ayları arasında % 33,7'si Endokrinoloji, % 23,8'i İç Hastalıkları, %16,6'sı Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, %12,8'i Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ve % 13,1'i diğer birimlere gelen toplam 4168 hasta grubunu serum D vitamini düzeyleri açısından değerlendirilmiş ve ortalama D vitamini düzeylerini  $22,80 \pm 13.27$  ng/ml (kadınlarda  $22.49 \pm 13.88$ , erkeklerde  $23.73 \pm 10.57$  ng/ml) olarak rapor ederek hasta grubunun %47'sinde (kadınların %50'si erkeklerin %38'inde) D vitamini eksikliği (<20 ng/mL); % 28'inde ise (kadınların %26'sı, erkeklerin % 33'ünde) D vitamini yetersizliği (20-30 ng/mL) bulunduğunu bildirmiştir. Çalışmada optimal D vitamini düzeyine (>30 ng/mL) göre yapılan değerlendirmeye göre, kadınların % 24'ü, erkeklerin % 29'u ve popülasyonun tamamına göre % 25'inin D vitamini düzeyinin optimal düzeyde olduğu gösterilmiştir (155). Nelson ve ark. Afrika kökenli Amerikalı erkeklerde, yüksek oranda kalsiyum ve serum D vitamini eksikliği ile agresif prostat kanserine yakalanma oranlarının sıklığına



ırk farklılıklarının da neden olduğunu göstermiştir. 158 prostat kanser tanısı konmuş çalışma grubunda 48 tane agresif prostat kanseri ve 58 tane de agresif olmayan prostat kanseri teşhisi konmuş hastadan oluşmaktadır. Eksik olarak tanımlanmış olan (<20 ng/mL) D vitamini seviyeleriyle agresif prostat kanseri (OR: 3.1, 95% CI: 1.03–9.57, p-value = 0.04) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (156). Gromowski ve ark. akciğer kanseri teşhisi konmuş 200 hasta ile 400 kişiden oluşan kontrol grubu arasında yapmış olduğu vaka kontrol çalışmasında akciğer kanserli hastaların 25-(OH)D düzeylerini ortalama 17,1 ng/mL, kontrol grubunun ise 17,2 ng/mL olarak tespit etmiş ve akciğer kanseri ile D vitamini düzeyi arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığını bildirmiştir (157). Çalışmamızda 84 kişiden oluşan kontrol grubunun ortalama 25-(OH)-D seviyesi 14,10 ng/mL  $\pm$  9,42 olarak ölçülürken, hasta grubunun 25-(OH)D seviyeleri sırasıyla primer beyin kanseri hastalarında 14,95 ng/mL  $\pm$  7,54 gliom hastalarında 14,69 ng/mL  $\pm$  8,41, meningiom hastalarında 15,29 ng/mL  $\pm$  6,46 olarak ölçülmüştür. Holick ve ark. D vitamini düzeylerini eksik olarak (< 20 ng/mL), yetersiz olarak (21-29 ng/mL), yeterli olarak (>30 ng/mL) sınıflandırmıştır (158). Buna göre hem kontrol grubu hem de hasta grubunun 25-(OH)D düzeylerinin < 20 ng/mL altında çıkması nedeniyle çalışma grubunun tamamında D vitamini eksikliği görülmektedir. Çalışmamız, Türk toplumundaki D vitamini seviyeleri açısından daha önce yapılan Ögüs ve ark. (155) çalışmasındaki verilerle uyumlu bulunmuştur. Bununla beraber, primer beyin kanseri ve alt grupları olan glioma ve meningioma açısından değerlendirildiğinde D vitamini düzeyleri ile beyin kanserleri arasında herhangi bir ilişkinin varlığı tespit edilmemiştir.

Hücre içerisinde D vitamini biyolojik etkisini, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D metabolitinin reseptörü olan D vitamini reseptörüne (VDR) bağlanarak gösterir. VDR, insülin büyüme faktörü (IGF) gibi çoklu yollarda yer alırken kanser prognozu ile ilişkili olabilecek inflamasyon ve östrojen ile ilişkili yollarda da rol oynamaktadır (150). Birçok çalışmada, VDR gen polimorfizmlerinin meme, prostat ve kolon karsinomu gibi çeşitli karsinom tiplerinin gelişiminde etkisi gösterilmiştir (150). VDR gen polimorfizmlerinden biri, ekzon 2'de yer alan ve VDR proteininin aktivitesini değiştiren alternatif bir transkripsiyon başlatma bölgesi ile sonuçlanan FokI (rs2228570) polimorfizmidir. Ekzon 2'deki polimorfik Fok-I bölgesi, sitozin (C) timin (T) süstitüsyonuna bağlı olarak farklı transkripsiyon başlatma bölgesi ile sonuçlanır. Diğer iyi bilinen bir polimorfizm olan ekzon 9'da yer alan Taq-I (rs731236) polimorfizminde bir T  $\rightarrow$  C nükleotid değişikliği sonrası (ATT  $\rightarrow$  ATC'ye) 352. kodonda sessiz mutasyona

neden olarak (izolösün → izolösün), sadece RNA transkriptinin ikincil yapısında meydana gelen yapısal değişikliklere bağlı olarak etki göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, nöronal ve glial hücrelerde lokalize VDR'lerin beyin hücrelerinin metabolizmasını etkilediği ve VDR ekspresyonunu değiştirdiği bildirilmiştir (89, 159). Bununla beraber, D vitamininin kanser tedavisi üzerindeki potansiyel etkisi, ilk olarak miyeloid lösemi hücrelerinde tanımlanmış (128, 129) ve sentetik D vitamini analoglarının merkezi sinir sistemi tümörlerinin tedavisinde kullanılması önerilmiştir. Ek olarak, faz II klinik çalışmaları, D vitamini tedavisinin glioblastoma hücreleri üzerindeki olumlu etkileri ile ilişkili bulunmuştur (160-165). Tedavi sonrası gliom hücrelerinde artan D vitamini sentezinin hücre proliferasyonunu düzenleyebileceği bildirilmiştir (89). Birçok çalışma da VDR polimorfizmlerinin çeşitli kanser türlerindeki etkisi belirtilmiştir. Bu çalışmada, beyin kanseri teşhisi konmuş hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubundaki bireylerde VDR Fok-I ve Taq-I'deki polimorfizmler ile beyin kanseri riski arasındaki ilişki değerlendirilmektedir.

Moossavi ve ark. İran'ın güney Horasan bölgesinde 2014-2016 yılları arasında 100 kolorektal kanser hastası ile 100 kontrol grubu arasında yaptığı vaka kontrol çalışmasında VDR-FokI genine ait genotip varyantlarıyla kolorektal kanser arasındaki ilişkiyi incelemiş ve hastaların VDR-FokI geninin FF, Ff, ff genotip varyantlarının sayısını sırasıyla % 62, % 30, % 8 iken kontrol grubunda ise sırasıyla % 75, % 23, % 2 olduğunu, F ve f allellerinin dağılımının ise hastalarda sırasıyla % 154, % 46 iken kontrol grubunda sırasıyla % 173, % 27 olduğunu belirtmiştir. FokI ff genotipine sahip İranlıların kolorektal kanser risk faktörünün yüksek olduğunu (P = 0,035, OR= 4,83, 95% CI, 0,99-23,8) ve aynı zamanda f allelinin de kolorektal kanseri için riskli allel olduğunu belirtmiştir (P = 0,0001, OR= 4,31, 95% CI, 2,99-6,22) (166). Barış ve ark. malign beyin tümörü teşhisi konmuş (0-18) yaş grubundaki 32 pediatrik beyin kanseri hasta ile 40 kişiden oluşan kontrol grubuyla yaptığı çalışmada beyin kanseri ile VDR-FokI gen varyantları arasında bir ilişki bulmamıştır (P=0,43) (167). Tang Ark. Avrupa'da 5284 vaka ve 7500 kontrol grubu arasında yaptığı karşılaştırmalı çalışmada meme kanseri ile VDR-FokI gen varyantları arasında anlamlı bir artış gözlemlendiği belirtilmiştir (168). Toptaş ve ark. Türk popülasyonunda beyin kanseri teşhisi konmuş 44 meningiom, 56 gliomdan oluşan 100 kişilik hasta grubu ile 122 kişilik kontrol grubu arasında VDR-FokI gen varyantlarının beyin kanseri ile ilişkisini incelemiştir.

Meningiom hasta grubundaki VDR-FokI geninin FF, Ff ve ff genotip varyantlarının frekansları sırasıyla % 43,2 , % 40,09 , % 15,90 iken F ile f allellerinin frekansları sırası ile % 63,6 ve % 36,4 olarak belirtilmiştir. Gliom hastalarında VDR-FokI geninin FF, Ff ve ff genotip varyantlarının frekansları sırasıyla % 50,0 , % 41,1 , % 18,9 iken F ile f allellerinin frekansları sırası ile % 70,5 ve % 29,5 olarak belirtmiştir. Kontrol grubunda ise VDR-FokI geninin FF, Ff ve ff genotip varyantlarının frekansları sırasıyla % 45,9 , % 51,6 , % 2,5 iken F ile f allellerinin frekansları sırası ile % 71,7 ve % 28,3 olarak belirtmiştir. Çalışmada meningiom hastalarıyla VDR-FokI gen varyantları arasında pozitif ilişki bulunduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, VDR-FokI ff genotipine sahip hastaların meningiom oluşumunda istatistiksel olarak etkisinin olduğu belirtilirken ( $P = 0.004$ )( $\chi^2:10.33$  OR: 6.470, %95 CI: 1.749–23.926), VDR-FokI gen varyantlarının gliom ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmadığı belirtilmiştir (150).

Çalışmamızda VDR-FokI geninin primer beyin tümörlerinde genotip varyantları FF> Ff > ff şeklinde ve F ile f allellerinin frekansları sırası ile % 69,72 ve % 30,28 olarak, gliom hastalarında FF> Ff > ff şeklinde ve F ile f allellerinin frekansları sırası ile % 70,73 , % 29,3 olarak, meningiom hastalarında FF> Ff > ff şeklinde ve F ile f allellerinin frekansları sırası ile % 68,3 , % 31,17 bulunmuşken kontrol grubunda genotip frekansları hasta grubuyla benzer şekilde FF> Ff > ff şeklinde olup F ile f allellerinin frekansları sırası ile % 67,86 ve % 32,14 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, 25-(OH)D vitamini seviyesi ile VDR-FokI geni varyantları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin tespit edilememesi, VDR-FokI rs2228570 polimorfizmi ile beyin kanseri arasında ilişkinin olmadığına işaret etmektedir.

Çalışmamız daha önce yapılan VDR FokI polimorfizm sonuçlarına kısmen uymaktadır. Bulgularımız, meningioma hastalarında Toptas ve ark. (150) çalışmalarının aksine, rs2228570 varyantları arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığına; ancak, glioma hastalarında Toptas ve ark. (150) ile Barış ve ark. (167) benzer şekilde bir ilişkinin olduğuna işaret etmektedir. Elde edilen bu farklı sonuç çalışma grubumuzdaki primer beyin kanserlerinin alt tipi olan meningioma hasta grubuna ait örnek sayılarının yetersiz olmasıyla ilişkili olabileceğinden, hasta sayılarının artırılarak örneklem grubunun genişletilmesiyle yapılacak deneylerle tekrar incelenmelidir.

Toptaş ve ark. Türk popülasyonunda beyin kanseri teşhisi konmuş hastalarla yaptıkları çalışmada VDR-TaqI gen varyantlarını da incelemiştir. Meningiom hasta

grubundaki VDR-TaqI geninin TT, Tt ve tt genotip varyantlarının frekansları sırasıyla % 52,3 , % 40,9, % 6,8 iken T ile t allellerinin frekansları sırası ile % 72,7 ve % 27,3 olarak belirtilmiştir. Gliom hastalarında VDR-TaqI geninin TT, Tt ve tt genotip varyantlarının frekansları sırasıyla % 57,1 , % 32,2 , % 10,7 iken T ile t allellerinin frekansları sırası ile % 73,2 ve % 26,8 olarak belirtmiştir. Kontrol grubunda ise VDR-TaqI geninin TT, Tt ve tt genotip varyantlarının frekansları sırasıyla % 53,3 , % 36 , % 10,7 iken T ile t allellerinin frekansları sırası ile % 71,3 ve % 28,7 olarak belirtmiştir. Meningiom, gliom ve kontrol olguları için VDR Taq-I genotip frekansları anlamlı olarak farklı olmadığını belirtmiştir ( $P > 0.05$ ) (150). Moossavi ve ark. ise kolorektal kanser teşhisi konan hastalarda VDR-TaqI geninin TT, Tt ve tt genotipik varyantlarının frekansını sırasıyla % 60, % 36, % 4 olarak, kontrol grubunda ise bu genotip frekanslarını sırasıyla % 54, % 41, % 5 olarak, T ve t allellerinin dağılımını ise hastalarda sırasıyla % 156, % 44, kontrol grubunda sırasıyla % 149, % 51 olarak belirtmiştir. Bu çalışmada kolorektal ile kontrol grubu olguları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (166). Benzer şekilde Barış ve ark.'nın pediatrik beyin kanseri hastaları ile yaptıkları çalışmada beyin kaseri ile VDR-TaqI gen varyantları arasında bir ilişki bulunmamıştır ( $P=0,81$ ) (167). Bu çalışmaların aksine, Tang ark. meme kanseri ile VDR-TaqI, BsmI ve ApaI gen varyantlarının arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirtilmiştir (168). Chen ve ark. 2018 de yayınlamış olduğu raporda, toplam 1363 vaka ve 2101 kontrol arasında yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda prostat kanseri ile VDR-TaqI gen varyantlarıyla Asyalılar'da ve özellikle de Japonlar'da anlamlı bir ilişki olduğu belirtilmiştir (T, t: OR [95% CI]=1.23 [1.05–1.44],  $P=0.010$ ; TT, tt: OR [95% CI]=1.99 [1.20–3.30],  $P=0.008$ ; [TT/Tt], tt: OR [95% CI]=2.03 [1.24–3.34],  $P=0.005$ ). Bununla birlikte, T alleli veya TT genotipini taşıyan prostat hastalarındaki kanser prognozunun daha kötü olduğunu ve ayrıca, VDR-TaqI gen varyantlarının prostat kanseri duyarlılığı için tanısız biyobelirteç için potansiyel olabileceğini belirtmiştir (169).

Çalışmamızda VDR-TaqI geninin primer beyin tümörlerinde genotip frekansları Tt> TT> tt şeklinde ve T ile t allellerinin frekansları sırası ile % 63,38 ve % 36,62 olarak, gliom hastalarında TT> Tt> tt şeklinde ve T ile t allellerinin frekansları sırası ile % 64,6 , % 35,4 olarak, meningiom hastalarında Tt> TT> tt şeklinde ve T ile t allellerinin frekansları sırası ile % 61,7 , % 38,3 bulunmuşken, kontrol grubunda Tt> TT> tt şeklinde ve T ile t allellerinin frekansları sırası ile % 60,71 ve % 39,29 olarak

bulunmuştur. Çalışmamızda VDR-TaqI gen varyantları ile beyin kanseri arasında ilişki bulunmayıp, aynı zamanda da 25-(OH)D vitamini seviyesi ile VDR-TaqI gen varyantları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

D vitamini metabolizmasında oldukça önemli rolü olan D vitamini bağlama proteini (VDBP), D vitamini metabolitlerini kanda taşıyan bir glikoproteindir. Kanda yüksek oranda bulunan VDBP, bir çok dokuya D vitaminin taşınması ve çeşitli hastalıkların oluşmasını engellemek için gereklidir (40). VDBP'nin 120'den fazla varyantı olduğu gösterilmişse de, elektroforezdeki hızlarına göre üç önemli fenotipik allel tanımlanmıştır (39, 44). VDBP genin 416.aminoasidindeki aspartik asit / glutamik asit aminoasit değişikliğinin neden olduğu VDBP rs: 7041 polimorfizmi ile VDBP geninin 420. aminoasidindeki treonin / lizin aminoasit değişikliklerinin neden olduğu VDBP rs: 4588 polimorfizimleri, VDBP'nin yaygın olarak incelenen iki polimorfizmdir.

Zhou ve Ark. 2012 yılında Çin'de 946 hasta ile 1187 kontrol grubu ile yaptığı vaka kontrol çalışması ile VDBP rs:7041 gen varyantlarıyla gastrointestinal kanser türleri arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Gastrointestinal kanserli hastaların VDBP rs:7041 geninin TT, TG ve GG genotipik varyantlarının frekansları sırasıyla % 49.5, % 43.3, % 7.2, kontrol grubunda ise sırasıyla % 51.4, % 41.1, % 7.5 olarak bulunmuştur ve gastrointestinal kanser türleri ile VDBP rs: 7041 geninin varyantları arasında istatistiksel bir ilişki bulunmamıştır. Yine aynı çalışmada kolorektal kanseri, mide kanseri, yemek borusu kanseri ve heptaselüler kanseri türleri ile VDBP rs:7041 genin varyantları arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (170). Onur ve ark. Türkiye'de 77 kişiden oluşan hasta grubu ile 22 kişiden oluşan kontrol grubu arasında yaptığı karşılaştırmalı çalışmada akciğer kanseri ile VDBP rs:7041 gen varyantları arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını belirtmiştir (p=0.35) (171). Anderson ve ark. ise yayınlamış olduğu raporda meme kanseri teşhisi konulmuş 1560 vaka ile 1633 sağlıklı kontrolden oluşan çalışma grubunda yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda meme kanseri ile VDBP rs:7041 gen varyantlarından TT genotipinin meme kanseri ile ilişkili olduğunu belirtmiş (OR=1.23; % 95 CI: 1,01, 1,51) ve Asyalılarda özellikle de Japonlarda bu durumun daha riskli olduğunu belirtmiştir (172).

Çalışmamızda VDBP rs: 7041 gen varyantının beyin kanseri üzerindeki etkisi araştırılmış olup, VDBP rs: 7041 genotip frekansları TG> GG> TT şeklinde ve T ile G allellerinin frekansları sırası ile % 41,55 ve % 58,45 olarak, gliom hastalarında TG>

GG> TT şeklinde ve T ile G allellerinin frekansları sırası ile % 45,12 , % 54,88, meningiom hastalarında TG> GG> TT şeklinde ve T ile G allellerinin frekansları sırası ile % 36,7 , % 63,3 bulunmuşken, kontrol grubunda TG> GG> TT şeklinde ve T ile G allellerinin frekansları sırası ile % 39,88 ve % 60,12 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda VDBP rs: 7041 gen varyantları ile beyin kanseri arasında literatürdeki farklı kanser türlerine benzer şekilde ilişki bulunmamıştır. Aynı zamanda 25-(OH)D vitamini seviyesi ile VDBP rs: 7041 geni varyantları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. VDBP rs: 7041 varyantlarıyla ilişkili bulgularımız Türk toplumunda beyin kanserlerinde yapılan ilk sonuçlar olup bu konudaki boşluğu doldurma niteliğindedir.

Çalışmamızda D Vitamini düzeyleri hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda 20 ng/mL normal düzeyinin altında ölçülmüş, kontrol grubundaki bu durum Türk toplumundaki vitamin D düzeylerinin literatürle uyumlu bir şekilde düşük seviyede olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, D vitamini düzeylerinin beslenme alışkanlıkları, güneş ışığına maruziyet, mevsimsel değişiklikler gibi nedenlerden etkilendiği de bilinmektedir. Çalışmamızda D vitamini düzeylerinin yalnızca VDR TaqI TT genotipine sahip gliom hastalarında ve VDBP GG genotipine sahip meningiom hastalarında 20-30ng/ mL aralığında olup geri kalan tüm hasta gruplarında ve genotiplerde 20 ng/mL'nin altında olması dikkat çekici olup, D vitamini düzeylerinin hastalığın prognozundaki muhtemel etkisi daha geniş kapsamlı örnekleme sahip çalışma gruplarından elde edilecek bulgularla tespit edilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Mehta RG. Stage-specific inhibition of mammary carcinogenesis by 1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *European Journal of Cancer*. 2004;40(15):2331-7.
2. Seubwai W, Wongkham C, Puapairoj A, Okada S, Wongkham S. 22-Oxa-1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> efficiently inhibits tumor growth in inoculated mice and primary histoculture of cholangiocarcinoma. *Cancer*. 2010;116(23):5535-43.
3. Araştırma UK. Dünyadaki Beyin Kanseri Vakası ve ölüm İstatistiği 2012 [updated 27.04.2018. Available from: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx?country=900](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx?country=900).
4. Rajaraman P, Melin BS, Wang Z, McKean-Cowdin R, Michaud DS, Wang SS, et al. Genome-wide association study of glioma and meta-analysis. *Human genetics*. 2012;131(12):1877-88.
5. Pinarbasi H, Silig Y, Gurelik M. Genetic polymorphisms of GSTs and their association with primary brain tumor incidence. *Cancer genetics and cytogenetics*. 2005;156(2):144-9.
6. Köstner K, Denzer N, Mueller CS, Klein R, Tilgen W, Reichrath J. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer research*. 2009;29(9):3511-36.
7. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: metabolism. *Endocrinology and Metabolism Clinics*. 2010;39(2):243-53.
8. BIKLE DD, GEE E, HALLORAN B, KOWALSKI MA, RYZEN E, HADDAD JG. Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D-binding protein. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1986;63(4):954-9.
9. Sweeney C, Curtin K, Murtaugh MA, Caan BJ, Potter JD, Slattery ML. Haplotype analysis of common vitamin D receptor variants and colon and rectal cancers. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2006;15(4):744-9.
10. Holick MF. McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D—new horizons for the 21st century. Oxford University Press; 1994.
11. J. Z. Handbook of vitamins.: 4th ed. CRC Press. New York; 2008. p. 608.
12. Ası T. Tablolarla biyokimya Cilt II. Ankara <http://veterinary.ankara.edu.tr/~fidanci>. 1999.
13. Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D<sub>2</sub> is much less effective than vitamin D<sub>3</sub> in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004;89(11):5387-91.
14. Whiting SJ, Calvo MS. Dietary recommendations to meet both endocrine and autocrine needs of vitamin D. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2005;97(1-2):7-12.
15. MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D<sub>3</sub>. *The Journal of clinical investigation*. 1985;76(4):1536-8.
16. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(8):2062-72.
17. Holick MF, MacLaughlin JA, Doppelt S. Regulation of cutaneous previtamin D<sub>3</sub> photosynthesis in man: skin pigment is not an essential regulator. *Science*. 1981;211(4482):590-3.
18. Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends in biochemical sciences*. 2004;29(12):664-73.

19. Grotz WH, Mundinger FA, Gugel B, Exner VM, Kirste G, Schollmeyer PJ. Bone mineral density after kidney transplantation. A cross-sectional study in 190 graft recipients up to 20 years after transplantation. *Transplantation*. 1995;59(7):982-6.
20. Kaseda R, Hosojima M, Sato H, Saito A. Role of megalin and cubilin in the metabolism of vitamin D3. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. 2011;15(s1):14-7.
21. Haussler MR, McCain TA. Basic and clinical concepts related to vitamin D metabolism and action. *New England Journal of Medicine*. 1977;297(18):974-83.
22. Bouillon R, De Groot L, Jameson J. Vitamin D: from photosynthesis, metabolism, and action to clinical applications. 2001.
23. Holick MF, editor High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clinic Proceedings*; 2006: Elsevier.
24. Hewison M, Zehnder D, Bland R, Stewart P. 1alpha-Hydroxylase and the action of vitamin D. *Journal of molecular endocrinology*. 2000;25(2):141-8.
25. Valdivielso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clinica Chimica Acta*. 2006;371(1-2):1-12.
26. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nature reviews cancer*. 2007;7(9):684.
27. Bouillon R, Bischoff-Ferrari H, Willett W. Vitamin D and health: perspectives from mice and man. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2008;23(7):974-9.
28. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;79(3):362-71.
29. Benn BS, Ajibade D, Porta A, Dhawan P, Hediger M, Peng J-B, et al. Active intestinal calcium transport in the absence of transient receptor potential vanilloid type 6 and calbindin-D9k. *Endocrinology*. 2008;149(6):3196-205.
30. Jimi E, Akiyama S, Tsurukai T, Okahashi N, Kobayashi K, Udagawa N, et al. Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function. *The Journal of Immunology*. 1999;163(1):434-42.
31. Leibbrandt A, Penninger JM. RANK/RANKL: regulators of immune responses and bone physiology. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1143(1):123-50.
32. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1, 25-dihydroxyvitamin D3. *Endocrinology and Metabolism Clinics*. 2010;39(2):255-69.
33. Makishima M, Lu TT, Xie W, Whitfield GK, Domoto H, Evans RM, et al. Vitamin D receptor as an intestinal bile acid sensor. *Science*. 2002;296(5571):1313-6.
34. Bikle DD. Vitamin D regulated keratinocyte differentiation. *Journal of cellular biochemistry*. 2004;92(3):436-44.
35. Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD, Bischoff-Ferrari HA, Tworoger SS, Willett WC, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension. *Hypertension*. 2007;49(5):1063-9.
36. Holick MF. Sunlight and vitamin D. *Journal of General Internal Medicine*. 2002;17(9):733-5.
37. White P, Cooke N. The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2000;11(8):320-7.
38. McLeod J, Cooke N. The vitamin D-binding protein, alpha-fetoprotein, albumin multigene family: detection of transcripts in multiple tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 1989;264(36):21760-9.



39. Bhan I. Vitamin D binding protein and bone health. *International journal of endocrinology*. 2014;2014.
40. Gomme PT, Bertolini J. Therapeutic potential of vitamin D-binding protein. *Trends in biotechnology*. 2004;22(7):340-5.
41. Cooke NE, Willard H, David E, George DL. Direct regional assignment of the gene for vitamin D binding protein (Gc-globulin) to human chromosome 4q11-q13 and identification of an associated DNA polymorphism. *Human genetics*. 1986;73(3):225-9.
42. Song Y-H, Naumova AK, Liebhaber SA, Cooke NE. Physical and meiotic mapping of the region of human chromosome 4q11-q13 encompassing the vitamin D binding protein DBP/Gc-globulin and albumin multigene cluster. *Genome research*. 1999;9(6):581-7.
43. Haddad JG, Hu YZ, Kowalski MA, Laramore C, Ray K, Robzyk P, et al. Identification of the sterol-and actin-binding domains of plasma vitamin D binding protein (Gc-globulin). *Biochemistry*. 1992;31(31):7174-81.
44. Delanghe JR, Speeckaert R, Speeckaert MM. Behind the scenes of vitamin D binding protein: more than vitamin D binding. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;29(5):773-86.
45. Abbas S, Linseisen J, Slinger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Flesch-Janys D, et al. The Gc2 allele of the vitamin D binding protein is associated with a decreased postmenopausal breast cancer risk, independent of the vitamin D status. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2008;17(6):1339-43.
46. Christiansen M, Jørgensen CS, Laursen I, Hirschberg D, Højrup P, Houen G. Protein chemical characterization of Gc globulin (vitamin D-binding protein) isoforms; Gc-1f, Gc-1s and Gc-2. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. 2007;1774(4):481-92.
47. Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, Taes YE. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clinica chimica acta*. 2006;372(1-2):33-42.
48. Arnaud J, Constans J. Affinity differences for vitamin D metabolites associated with the genetic isoforms of the human serum carrier protein (DBP). *Human genetics*. 1993;92(2):183-8.
49. Issa L, Leong G, Eisman J. Molecular mechanism of vitamin D receptor action. *Inflammation Research*. 1998;47(12):451-75.
50. Sutton AL, MacDonald PN. Vitamin D: more than a “bone-a-fide” hormone. *Molecular Endocrinology*. 2003;17(5):777-91.
51. Raimondi S, Johansson H, Maisonneuve P, Gandini S. Review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk. *Carcinogenesis*. 2009;30(7):1170-80.
52. Jacobs ET, Alberts DS, Benuzillo J, Hollis BW, Thompson PA, Martínez ME. Serum 25 (OH) D levels, dietary intake of vitamin D, and colorectal adenoma recurrence. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2007;103(3-5):752-6.
53. Haussler M, Haussler C, Jurutka P, Thompson P, Hsieh J, Remus L, et al. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *Journal of Endocrinology*. 1997;154(3 Suppl):S57-S73.
54. Jones G, Strugnell SA, DeLUCA HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiological reviews*. 1998;78(4):1193-231.
55. Taymans SE, Pack S, Pak E, Orban Z, Barsony J, Zhuang Z, et al. The Human Vitamin D Receptor Gene (VDR) Is Localized to Region 12cen-q12 by Fluorescent In

Situ Hybridization and Radiation Hybrid Mapping: Genetic and Physical VDR Map. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1999;14(7):1163-6.

56. Crofts L, Hancock M, Morrison N, Eisman J. Multiple promoters direct the tissue-specific expression of novel N-terminal variant human vitamin D receptor gene transcripts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(18):10529-34.

57. Thomas M, Tebbutt S, Williamson R. Vitamin D and its metabolites inhibit cell proliferation in human rectal mucosa and a colon cancer cell line. *Gut*. 1992;33(12):1660-3.

58. Guo S-W, Magnuson VL, Schiller JJ, Wang X, Wu Y, Ghosh S. Meta-analysis of vitamin D receptor polymorphisms and type 1 diabetes: a HuGE review of genetic association studies. *American journal of epidemiology*. 2006;164(8):711-24.

59. Nejentsev S, Cooper JD, Godfrey L, Howson JM, Rance H, Nutland S, et al. Analysis of the vitamin D receptor gene sequence variants in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004;53(10):2709-12.

60. Yaylım-Eraltan İ, Arzu Ergen H, Arıkan S, Okay E, Öztürk O, Bayrak S, et al. Investigation of the VDR gene polymorphisms association with susceptibility to colorectal cancer. *Cell biochemistry and function*. 2007;25(6):731-7.

61. Mitra S, Desai M, Khatkhatay MI. Vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Indian women. *Maturitas*. 2006;55(1):27-35.

62. Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JB, Pols HA, van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*. 2004;338(2):143-56.

63. Dayangaç D, Özaydın E, Özbaş-Gerçeker F. Sağlıklı Türk Populasyonunda Vitamin D Reseptör (VDR) Gen Polimorfizm Analizi. *Türk Biyokimya Dergisi*. 2002;27:11-6.

64. Parfitt A, Nguyen T, Kelly P, Morrison N, Sambrook P, Eisman J, et al. Vitamin D receptor genotypes in osteoporosis. *The Lancet*. 1994;344(8936):1580-1.

65. Bai Y-H, Lu H, Hong D, Lin C-C, Yu Z, Chen B-C. Vitamin D receptor gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a systematic meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2012;18(14):1672.

66. Whitfield GK, Remus LS, Jurutka PW, Zitzer H, Oza AK, Dang HT, et al. Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Molecular and cellular endocrinology*. 2001;177(1-2):145-59.

67. Mosekilde L. Vitamin D requirement and setting recommendation levels: long-term perspectives. *Nutrition reviews*. 2008;66(s2).

68. Lips P, Chapuy M, Dawson-Hughes B, Pols H, Holick M. An international comparison of serum 25-hydroxyvitamin D measurements. *Osteoporosis International*. 1999;9(5):394-7.

69. Alonso LC, Rosenfield RL. Molecular genetic and endocrine mechanisms of hair growth. *Hormone Research in Paediatrics*. 2003;60(1):1-13.

70. Shang Y, Myers M, Brown M. Formation of the androgen receptor transcription complex. *Molecular cell*. 2002;9(3):601-10.

71. Gottlieb B, Beitel LK, Wu JH, Trifiro M. The androgen receptor gene mutations database (ARDB): 2004 update. *Human mutation*. 2004;23(6):527-33.

72. Kumar A, Eby MT, Sinha S, Jasmin A, Chaudhary PM. The ectodermal dysplasia receptor activates the nuclear factor- $\kappa$ B, JNK, and cell death pathways and binds to ectodysplasin A. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(4):2668-77.

73. Bubulya A, Wise SC, Shen X-Q, Burmeister LA, Shemshedini L. c-Jun can mediate androgen receptor-induced transactivation. *Journal of Biological Chemistry*. 1996;271(40):24583-9.

74. Barake M, Daher RT, Salti I, Cortas NK, Al-Shaar L, Habib RH, et al. 25-hydroxyvitamin D assay variations and impact on clinical decision making. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012;97(3):835-43.
75. Farrell C-JL, Martin S, McWhinney B, Straub I, Williams P, Herrmann M. State-of-the-art vitamin D assays: a comparison of automated immunoassays with liquid chromatography–tandem mass spectrometry methods. *Clinical Chemistry*. 2012;clinchem. 2011.172155.
76. Heijboer AC, Blankenstein MA, Kema IP, Buijs MM. Accuracy of 6 routine 25-hydroxyvitamin D assays: influence of vitamin D binding protein concentration. *Clinical chemistry*. 2012;58(3):543-8.
77. Leino A, Turpeinen U, Koskinen P. Automated measurement of 25-OH vitamin D3 on the Roche Modular E170 analyzer. *Clinical chemistry*. 2008;54(12):2059-62.
78. Vieth R. Why the minimum desirable serum 25-hydroxyvitamin D level should be 75 nmol/L (30 ng/ml). *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;25(4):681-91.
79. Prentice A. Vitamin D deficiency: a global perspective. *Nutrition reviews*. 2008;66(s2).
80. Bischoff-Ferrari HA. Optimal serum 25-hydroxyvitamin D levels for multiple health outcomes. *Sunlight, Vitamin D and Skin Cancer*: Springer; 2008. p. 55-71.
81. Bohan EM, editor *Cognitive changes associated with central nervous system malignancies and treatment*. *Seminars in oncology nursing*; 2013: Elsevier.
82. Cahill J, LoBiondo-Wood G, Bergstrom N, Armstrong T. Brain tumor symptoms as antecedents to uncertainty: an integrative review. *Journal of Nursing Scholarship*. 2012;44(2):145-55.
83. Nabors LB, Ammirati M, Bierman PJ, Brem H, Butowski N, Chamberlain MC, et al. Central nervous system cancers. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2013;11(9):1114-51.
84. Bakanlığı TS. *Kanser İstatistikleri 2017* [updated 27.04.2018. Available from: [http://kanser.gov.tr/Dosya/2017Haberler/2017\\_4\\_subat.pdf](http://kanser.gov.tr/Dosya/2017Haberler/2017_4_subat.pdf).
85. Bakanlığı TS. *Kanser İstatistikleri 2014 2017* [updated 27.04.2018. Available from: [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/2014-RAPOR\\_uzuuun.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/2014-RAPOR_uzuuun.pdf).
86. Miyazaki T, Ishikawa E, Matsuda M, Akutsu H, Osuka S, Sakamoto N, et al. Assessment of PD-1 positive cells on initial and secondary resected tumor specimens of newly diagnosed glioblastoma and its implications on patient outcome. *Journal of neuro-oncology*. 2017;133(2):277-85.
87. Devita Jr VT, Lawrence T, Rosenberg SA. *Cancer: Principles & Practice of Oncology: Annual Advances in Oncology*: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
88. Lowitz B, Casciato D, Tabbarah H. Neurologic tumor. *Manual of clinical oncology* Boston: Little, Brown and Co. 1988:220-30.
89. Garcion E, Wion-Barbot N, Montero-Menei CN, Berger F, Wion D. New clues about vitamin D functions in the nervous system. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2002;13(3):100-5.
90. McCann JC, Ames BN. Is there convincing biological or behavioral evidence linking vitamin D deficiency to brain dysfunction? *The FASEB Journal*. 2008;22(4):982-1001.
91. Luine VN, Sonnenberg J, Christakos S. Vitamin D: is the brain a target? *Steroids*. 1987;49(1-3):133-53.

92. Hoenderop JG, Hartog A, Stuver M, Doucet A, Willems PH, Bindels RJ. Localization of the epithelial Ca<sup>2+</sup> channel in rabbit kidney and intestine. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2000;11(7):1171-8.
93. Kahlen J-P, Carlberg C. Identification of a vitamin D receptor homodimer-type response element in the rat calcitriol 24-hydroxylase gene promoter. *Biochemical and biophysical research communications*. 1994;202(3):1366-72.
94. Stumpf WE. Drug localization and targeting with receptor microscopic autoradiography. *Journal of pharmacological and toxicological methods*. 2005;51(1):25-40.
95. Pardridge WM, Sakiyama R, Coty WA. Restricted transport of vitamin D and A derivatives through the rat blood-brain barrier. *Journal of neurochemistry*. 1985;44(4):1138-41.
96. Balabanova S, Richter H-P, Antoniadis G, Homoki J, Kremmer N, Hanle J, et al. 25-Hydroxyvitamin D, 24, 25-dihydroxyvitamin D and 1, 25-dihydroxyvitamin D in human cerebrospinal fluid. *Klinische Wochenschrift*. 1984;62(22):1086-90.
97. Burkert R, McGrath J, Eyles D. Vitamin D receptor expression in the embryonic rat brain. *Neuroscience Research Communications*. 2003;33(1):63-71.
98. Johnson JA, Grande JP, Windebank AJ, Kumar R. 1, 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptors in developing dorsal root ganglia of fetal rats. *Developmental brain research*. 1996;92(1):120-4.
99. Langub M, Herman J, Malluche H, Koszewski N. Evidence of functional vitamin D receptors in rat hippocampus. *Neuroscience*. 2001;104(1):49-56.
100. Musiol I, Stumpf W, Bidmon H-J, Heiss C, Mayerhofer A, Bartke A. Vitamin D nuclear binding to neurons of the septal, substriatal and amygdaloid area in the Siberian hamster (*Phodopus sungorus*) brain. *Neuroscience*. 1992;48(4):841-8.
101. Zehnder D, Bland R, Williams MC, McNinch RW, Howie AJ, Stewart PM, et al. Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -hydroxylase. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001;86(2):888-94.
102. Eyles DW, Smith S, Kinobe R, Hewison M, McGrath JJ. Distribution of the vitamin D receptor and 1 $\alpha$ -hydroxylase in human brain. *Journal of chemical neuroanatomy*. 2005;29(1):21-30.
103. Prüfer K, Veenstra TD, Jirikowski GF, Kumar R. Distribution of 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor immunoreactivity in the rat brain and spinal cord. *Journal of chemical neuroanatomy*. 1999;16(2):135-45.
104. Veenstra TD, Prüfer K, Koenigsberger C, Brimijoin SW, Grande JP, Kumar R. 1, 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptors in the central nervous system of the rat embryo. *Brain research*. 1998;804(2):193-205.
105. Baas D, Prüfer K, Ittel ME, Kuchler-Bopp S, Labourdette G, Sarliève LL, et al. Rat oligodendrocytes express the vitamin D<sub>3</sub> receptor and respond to 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Glia*. 2000;31(1):59-68.
106. Cornet A, Baudet C, Neveu I, Baron-Van Evercooren A, Brachet P, Naveilhan P. 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> regulates the expression of VDR and NGF gene in Schwann cells in vitro. *Journal of Neuroscience Research*. 1998;53(6):742-6.
107. Boontanrart M, Hall SD, Spanier JA, Hayes CE, Olson JK. Vitamin D<sub>3</sub> alters microglia immune activation by an IL-10 dependent SOCS3 mechanism. *Journal of neuroimmunology*. 2016;292:126-36.
108. Naveilhan P, Neveu I, Baudet C, Ohyama K, Brachet P, Wion D. Expression of 25 (OH) vitamin D<sub>3</sub> 24-hydroxylase gene in glial cells. *Neuroreport*. 1993;5(3):255-7.

109. Wion D, MacGrogan D, Neveu I, Jehan F, Houlgatte R, Brachet P. 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 is a potent inducer of nerve growth factor synthesis. *Journal of neuroscience research*. 1991;28(1):110-4.
110. Gezen-Ak D, Dursun E, Yilmazer S. The effects of vitamin D receptor silencing on the expression of LVSCC-A1C and LVSCC-A1D and the release of NGF in cortical neurons. *PLoS One*. 2011;6(3):e17553.
111. Neveu I, Naveilhan P, Baudet C, Brachet P, Metsis M. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 regulates NT-3, NT-4 but not BDNF mRNA in astrocytes. *Neuroreport*. 1994;6(1):124-6.
112. Riaz S, Malcangio M, Miller M, Tomlinson D. A vitamin D3 derivative (CB1093) induces nerve growth factor and prevents neurotrophic deficits in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*. 1999;42(11):1308-13.
113. Brewer LD, Thibault V, Chen K-C, Langub MC, Landfield PW, Porter NM. Vitamin D hormone confers neuroprotection in parallel with downregulation of L-type calcium channel expression in hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience*. 2001;21(1):98-108.
114. de Viragh PA, Haglid K, Celio M. Parvalbumin increases in the caudate putamen of rats with vitamin D hypervitaminosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1989;86(10):3887-90.
115. Dawson VL, Dawson TM. Nitric oxide in neurodegeneration. *Progress in brain research*. 118: Elsevier; 1998. p. 215-29.
116. Cekic M, Sayeed I, Stein DG. Combination treatment with progesterone and vitamin D hormone may be more effective than monotherapy for nervous system injury and disease. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2009;30(2):158-72.
117. Ferrari S, Bonjour J-P, Rizzoli R. The vitamin D receptor gene and calcium metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 1998;9(7):259-65.
118. Engelman CD, Fingerlin TE, Langefeld CD, Hicks PJ, Rich SS, Wagenknecht LE, et al. Genetic and environmental determinants of 25-hydroxyvitamin D and 1, 25-dihydroxyvitamin D levels in Hispanic and African Americans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(9):3381-8.
119. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2015;65(2):87-108.
120. Mohr SB. A brief history of vitamin D and cancer prevention. *Annals of epidemiology*. 2009;19(2):79-83.
121. Grant WB. A critical review of Vitamin D and cancer: A report of the IARC Working Group on vitamin D. *Dermato-endocrinology*. 2009;1(1):25-33.
122. Larsen ER, Mosekilde L, Foldspang A. Vitamin D and calcium supplementation prevents osteoporotic fractures in elderly community dwelling residents: a pragmatic population-based 3-year intervention study. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2004;19(3):370-8.
123. Ylikomi T, Laaksi I, Lou Y-R, Martikainen P, Miettinen S, Pennanen P, et al. Antiproliferative action of vitamin D. 2002.
124. Bouillon R, Moody T, Sporn M, Barrett JC, Norman AW. NIH deltanoids meeting on vitamin D and cancer: conclusion and strategic options. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2005;97(1-2):3-5.
125. Chiang K-C, C Chen T. The anti-cancer actions of vitamin D. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*. 2013;13(1):126-39.

126. Debatin K-M. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2004;53(3):153-9.
127. Chiang KC, Yeh CN, Chen MF, Chen TC. Hepatocellular carcinoma and vitamin D: a review. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2011;26(11):1597-603.
128. COLSTON K, Colston MJ, FELDMAN D. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology*. 1981;108(3):1083-6.
129. Abe E, Miyaura C, Sakagami H, Takeda M, Konno K, Yamazaki T, et al. Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1981;78(8):4990-4.
130. Milczarek M, Psurski M, Kutner A, Wietrzyk J. Vitamin D analogs enhance the anticancer activity of 5-fluorouracil in an in vivo mouse colon cancer model. *BMC cancer*. 2013;13(1):294.
131. Ajibade AA, Kirk JS, Karasik E, Gillard B, Moser MT, Johnson CS, et al. Early growth inhibition is followed by increased metastatic disease with vitamin D (calcitriol) treatment in the TRAMP model of prostate cancer. *PloS one*. 2014;9(2):e89555.
132. Manson JE, Mayne ST, Clinton SK. Vitamin D and prevention of cancer: ready for prime time? *Obstetrical & Gynecological Survey*. 2011;66(8):494-5.
133. Krishnan AV, Feldman D. Mechanisms of the anti-cancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2011;51:311-36.
134. Bertone-Johnson ER, Chen WY, Holick MF, Hollis BW, Colditz GA, Willett WC, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1, 25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2005;14(8):1991-7.
135. Lowe LC, Guy M, Mansi JL, Peckitt C, Bliss J, Wilson RG, et al. Plasma 25-hydroxy vitamin D concentrations, vitamin D receptor genotype and breast cancer risk in a UK Caucasian population. *European journal of cancer*. 2005;41(8):1164-9.
136. Tworoger SS, Lee I-M, Buring JE, Rosner B, Hollis BW, Hankinson SE. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1, 25-dihydroxyvitamin D and risk of incident ovarian cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2007;16(4):783-8.
137. Garland CF, Mohr SB, Gorham ED, Grant WB, Garland FC. Role of ultraviolet B irradiance and vitamin D in prevention of ovarian cancer. *American journal of preventive medicine*. 2006;31(6):512-4.
138. Shi L, Nechuta S, Gao Y-T, Zheng Y, Dorjgochoo T, Wu J, et al. Correlates of 25-hydroxyvitamin D among Chinese breast cancer patients. *PLoS One*. 2014;9(1):e86467.
139. Kim JR, Kim BH, Kim SM, Oh MY, Kim WJ, Jeon YK, et al. Low serum 25 hydroxyvitamin D is associated with poor clinicopathologic characteristics in female patients with papillary thyroid cancer. *Thyroid*. 2014;24(11):1618-24.
140. Neuhauser ML, Sorensen B, Hollis BW, Ambis A, Ulrich CM, McTiernan A, et al. Vitamin D insufficiency in a multiethnic cohort of breast cancer survivors. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2008;88(1):133-9.
141. Jenab M, Bueno-de-Mesquita HB, Ferrari P, van Duijnhoven FJ, Norat T, Pischon T, et al. Association between pre-diagnostic circulating vitamin D concentration and risk of colorectal cancer in European populations: a nested case-control study. *Bmj*. 2010;340:b5500.
142. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *International journal of epidemiology*. 1980;9(3):227-31.

143. Gorham ED, Garland CF, Garland FC. Acid haze air pollution and breast and colon cancer mortality in 20 Canadian cities. *Canadian journal of public health= Revue canadienne de sante publique*. 1989;80(2):96-100.
144. LEFKOWITZ ES, Garland CF. Sunlight, vitamin D, and ovarian cancer mortality rates in US women. *International Journal of Epidemiology*. 1994;23(6):1133-6.
145. Holick M. Vitamin D: Photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications In: *Primer on the of minerol metabolism*. Editor Murray J Favus, chapter 13, 74-81. Lippincott. Raver, Philadelphia. New York.
146. Ahonen MH, Tenkanen L, Teppo L, Hakama M, Tuohimaa P. Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer Causes & Control*. 2000;11(9):847-52.
147. Giovannucci E. The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: a review (United States). *Cancer Causes & Control*. 2005;16(2):83-95.
148. Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB, Hollis BW, Fuchs CS, Stampfer MJ, et al. Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. *Journal of the National Cancer Institute*. 2006;98(7):451-9.
149. Holick MF. Vitamin D: a D-Lightful health perspective. *Nutrition reviews*. 2008;66(suppl\_2):S182-S94.
150. Toptaş B, Kafadar AM, Cacina C, Turan S, Yurdum LM, Yiğitbaşı N, et al. The vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms in Turkish brain cancer patients. *BioMed research international*. 2013;2013.
151. Mezawa H, Sugiura T, Watanabe M, Norizoe C, Takahashi D, Shimojima A, et al. Serum vitamin D levels and survival of patients with colorectal cancer: post-hoc analysis of a prospective cohort study. *BMC cancer*. 2010;10(1):347.
152. Atoum MF, Tchoporyan MN. Association between circulating vitamin D, the Taq1 vitamin D receptor gene polymorphism and colorectal cancer risk among Jordanians. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(17):7337-41.
153. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, et al. Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative meta analysis. *American journal of preventive medicine*. 2007;32(3):210-6.
154. Wu Y, Sarkissyan M, Clayton S, Chlebowski R, Vadgama JV. Association of vitamin D3 level with breast cancer risk and prognosis in African-American and Hispanic women. *Cancers*. 2017;9(10):144.
155. Ögüş E, Sürer H, Kılınç A, Fidancı V, Yılmaz G, Dindar N, et al. D Vitamini düzeylerinin aylara, cinsiyete ve yaşa göre değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal*. 2014;15(1).
156. Nelson SM, Batai K, Ahaghotu C, Agurs-Collins T, Kittles RA. Association between serum 25-hydroxy-vitamin D and aggressive prostate cancer in African American men. *Nutrients*. 2016;9(1):12.
157. Gromowski T, Gapska P, Scott RJ, Kałkowski K, Marciniak W, Durda K, et al. Serum 25 (OH) D concentration, common variants of the VDR gene and lung cancer occurrence. *International journal of cancer*. 2017;141(2):336-41.
158. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Annals of epidemiology*. 2009;19(2):73-8.
159. Bhanushali AA, Lajpal N, Kulkarni SS, Chavan SS, Bagadi SS, Das BR. Frequency of fokI and taqI polymorphism of vitamin D receptor gene in Indian population and its association with 25-hydroxyvitamin D levels. *Indian journal of human genetics*. 2009;15(3):108.

160. Naveilhan P, Berger F, Haddad K, Barbot N, Benabid AL, Brachet P, et al. Induction of glioma cell death by 1, 25 (OH) 2 vitamin D<sub>3</sub>: towards an endocrine therapy of brain tumors? *Journal of neuroscience research*. 1994;37(2):271-7.
161. Baudet C, Chevalier G, Naveilhan P, Binderup L, Brachet P, Wion D. Cytotoxic effects of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and synthetic vitamin D<sub>3</sub> analogues on a glioma cell line. *Cancer letters*. 1996;100(1-2):3-10.
162. Baudet C, Chevalier G, Chassevent A, Canova C, Filmon R, Larra F, et al. 1, 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> induces programmed cell death in a rat glioma cell line. *Journal of neuroscience research*. 1996;46(5):540-50.
163. Davoust N, Wion D, Chevalier G, Garabedian M, Brachet P, Couez D. Vitamin D receptor stable transfection restores the susceptibility to 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> cytotoxicity in a rat glioma resistant clone. *Journal of neuroscience research*. 1998;52(2):210-9.
164. Trouillas P, Honnorat J, Bret P, Jouvet A, Gerard J-P. Redifferentiation therapy in brain tumors: long-lasting complete regression of glioblastomas and an anaplastic astrocytoma under long term 1-alpha-hydroxycholecalciferol. *Journal of Neuro-oncology*. 2001;51(1):57-66.
165. Neveu I, Naveilhan P, Mena C, Wion D, Brachet P, Garabedian M. Synthesis of 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> by rat brain macrophages in vitro. *Journal of neuroscience research*. 1994;38(2):214-20.
166. Moossavi M, Parsamanesh N, Mohammadoo-Khorasani M, Moosavi M, Tavakkoli T, Fakharian T, et al. Positive correlation between vitamin D receptor gene FokI polymorphism and colorectal cancer susceptibility in South-Khorasan of Iran. *Journal of cellular biochemistry*. 2018.
167. Yilmaz B, Tokuc GA, Koc A, Yesil E. Investigation of vitamin D receptor gene polymorphism in pediatric patients with brain cancer. *Indian journal of medical and paediatric oncology: official journal of Indian Society of Medical & Paediatric Oncology*. 2017;38(2):128.
168. Tang C, Chen N, Wu M, Yuan H, Du Y. FokI polymorphism of vitamin D receptor gene contributes to breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *Breast cancer research and treatment*. 2009;117(2):391.
169. Chen L, Wei J, Zhang S, Lou Z, Wang X, Ren Y, et al. association of VDR gene TaqI polymorphism with the susceptibility to prostate cancer in asian population evaluated by an updated systematic meta-analysis. *OncoTargets and therapy*. 2018;11:3267.
170. Zhou L, Zhang X, Chen X, Liu L, Lu C, Tang X, et al. GC Glu416Asp and Thr420Lys polymorphisms contribute to gastrointestinal cancer susceptibility in a Chinese population. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2012;5(1):72.
171. Baykara O, Erşen E, Batur Ş, Buyru N. Role of vitamin D binding protein (VDBP) gene polymorphisms in lung cancer. *Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2017;25(4):622-6.
172. Anderson LN, Cotterchio M, Cole DE, Knight JA. Vitamin D-related genetic variants, interactions with vitamin D exposure and breast cancer risk among Caucasian women in Ontario. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2011:cebp.0300.2011.



## HAM VERİLER

### Crosstabs

Notes			
Output Created		23-JUL-2018 17:19:31	
Comments			
Input	Data	C:\Users\OKHdELL\Desktop\murat\MURAT TEZ 21.7.2018.sav	
	Active Dataset	DataSet1	
	Filter	<none>	
	Weight	<none>	
	Split File	<none>	
	N of Rows in Working Data		155
Missing Value Handling	File		
	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.	
	Cases Used	Statistics for each table are based on all the cases with valid data in the specified range(s) for all variables in each table.	
Syntax		CROSSTABS	
		/TABLES=GRUPS BY vdrfok vdrtaq dbp	
		/FORMAT=AVALUE TABLES	
		/STATISTICS=CHISQ RISK	
		/CELLS=COUNT EXPECTED ROW /COUNT ROUND CELL /BARCHART.	
Resources	Processor Time		00:00:02,05
	Elapsed Time		00:00:01,99
	Dimensions Requested		2
	Cells Available		131029

[DataSet1] C:\Users\OKHdELL\Desktop\murat\MURAT TEZ 21.7.2018.sav

## Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUPS * vdrfok	155	100,0%	0	0,0%	155	100,0%
GRUPS * vdrtaq	155	100,0%	0	0,0%	155	100,0%
GRUPS * dbp	155	100,0%	0	0,0%	155	100,0%

## GRUPS \* vdrfok



## Crosstab

		vdrfok			Total
		FF	Ff	ff	
kontrol	Count	41	32	11	84
	Expected Count	42,3	30,9	10,8	84,0
	% within GRUPS	48,8%	38,1%	13,1%	100,0%
GRUPS gliom hasta	Count	21	16	4	41
	Expected Count	20,6	15,1	5,3	41,0
	% within GRUPS	51,2%	39,0%	9,8%	100,0%
meningiom	Count	16	9	5	30
	Expected Count	15,1	11,0	3,9	30,0
	% within GRUPS	53,3%	30,0%	16,7%	100,0%
Total	Count	78	57	20	155
	Expected Count	78,0	57,0	20,0	155,0
	% within GRUPS	50,3%	36,8%	12,9%	100,0%

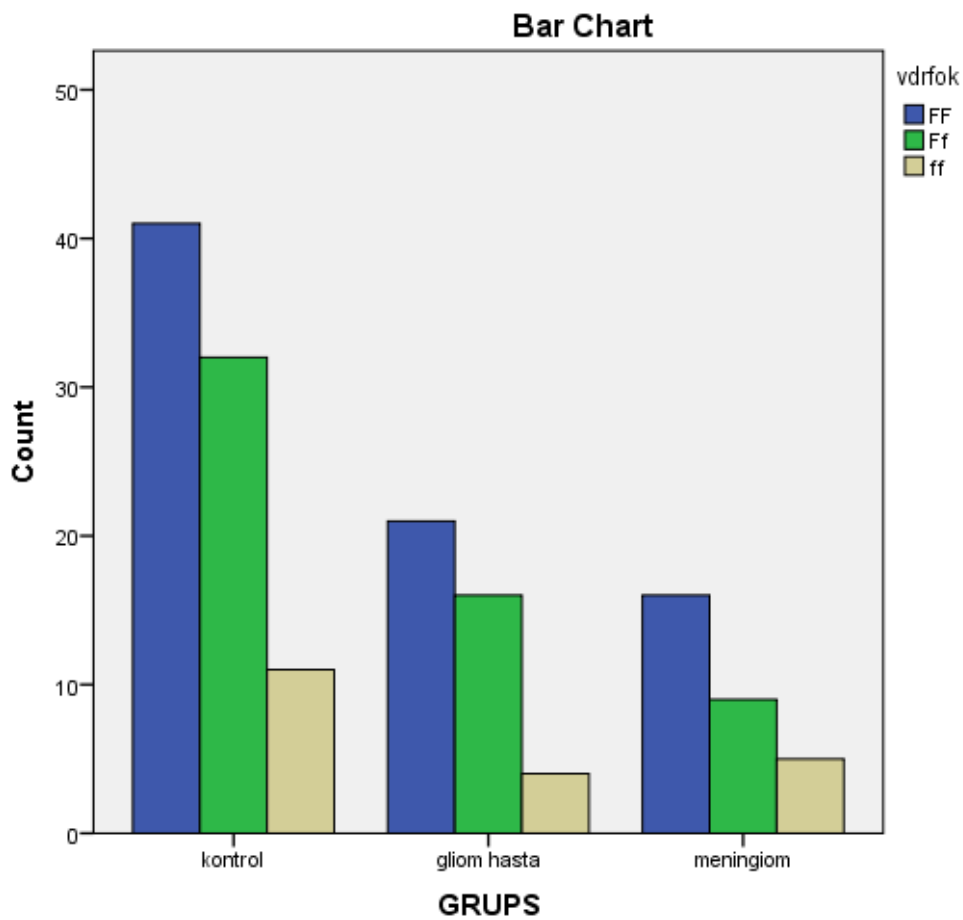
## Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,216 <sup>a</sup>	4	,875
Likelihood Ratio	1,240	4	,871
Linear-by-Linear Association	,031	1	,861
N of Valid Cases	155		

a. 1 cells (11,1%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,87.

Risk Estimate	
	Value
Odds Ratio for GRUPS (kontrol / gliom hasta)	a

a. Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2\*2 table without empty cells.



**GRUPS \* vdrtaq**

Crosstab

		vdrtaq			Total	
		TT	Tt	tt		
GRUPS	kontrol	Count	31	40	13	84
		Expected Count	32,5	39,0	12,5	84,0
		% within GRUPS	36,9%	47,6%	15,5%	100,0%
	gliom hasta	Count	18	17	6	41
		Expected Count	15,9	19,0	6,1	41,0
		% within GRUPS	43,9%	41,5%	14,6%	100,0%
	meningiom	Count	11	15	4	30
		Expected Count	11,6	13,9	4,5	30,0
		% within GRUPS	36,7%	50,0%	13,3%	100,0%
Total		Count	60	72	23	155
		Expected Count	60,0	72,0	23,0	155,0
		% within GRUPS	38,7%	46,5%	14,8%	100,0%

Chi-Square Tests

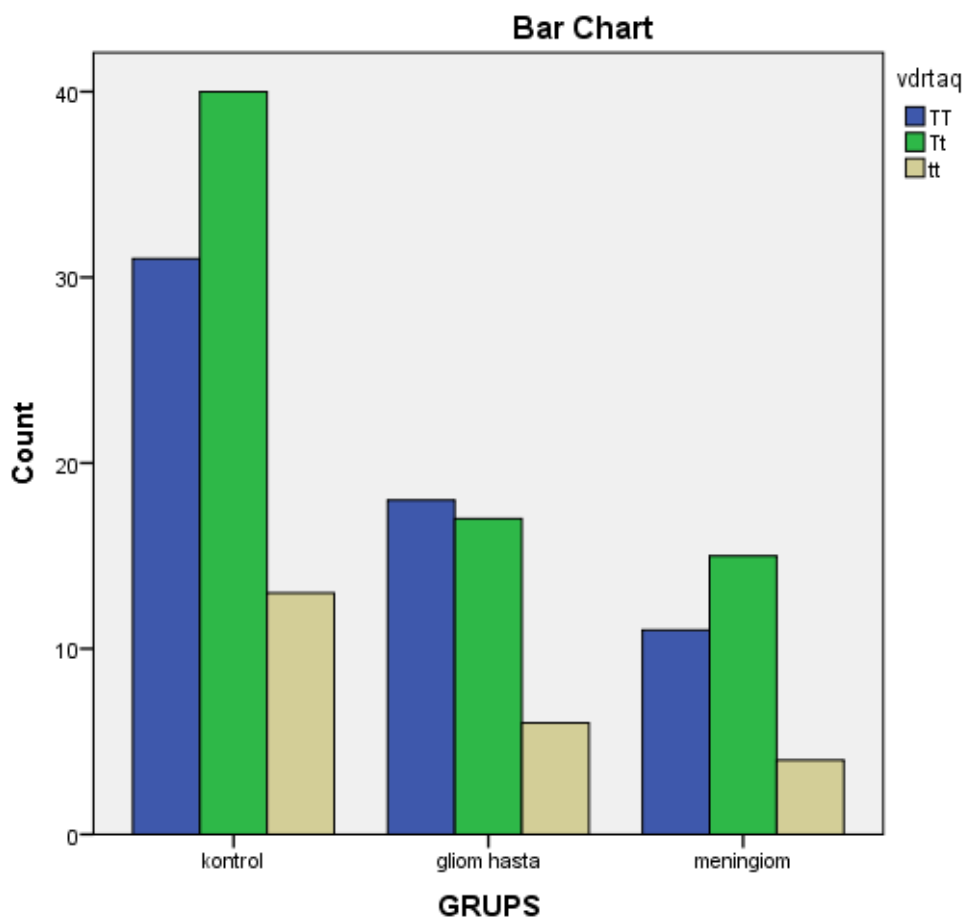
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,784 <sup>a</sup>	4	,941
Likelihood Ratio	,781	4	,941
Linear-by-Linear Association	,078	1	,780
N of Valid Cases	155		

a. 1 cells (11,1%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,45.

Risk Estimate

	Value
Odds Ratio for GRUPS (kontrol / gliom hasta)	<sup>a</sup>

a. Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2\*2 table without empty cells.



**GRUPS \* dbp**

**Crosstab**

		dbp			Total	
		TT	TG	GG		
GRUPS	kontrol	Count	9	49	26	84
		Expected Count	9,2	49,9	24,9	84,0
		% within GRUPS	10,7%	58,3%	31,0%	100,0%
GRUPS	gliom hasta	Count	6	25	10	41
		Expected Count	4,5	24,3	12,2	41,0
		% within GRUPS	14,6%	61,0%	24,4%	100,0%
	meningiom	Count	2	18	10	30

	Expected Count	3,3	17,8	8,9	30,0
	% within GRUPS	6,7%	60,0%	33,3%	100,0%
	Count	17	92	46	155
Total	Expected Count	17,0	92,0	46,0	155,0
	% within GRUPS	11,0%	59,4%	29,7%	100,0%

#### Chi-Square Tests

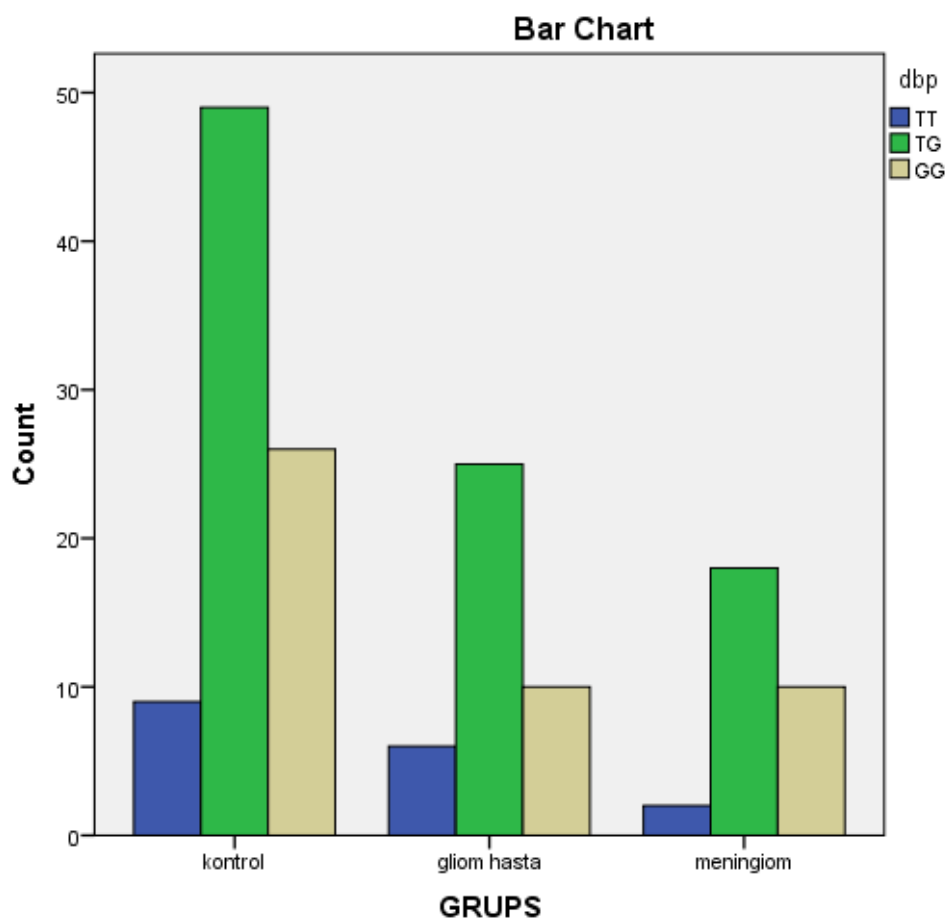
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,616 <sup>a</sup>	4	,806
Likelihood Ratio	1,670	4	,796
Linear-by-Linear Association	,034	1	,853
N of Valid Cases	155		

a. 2 cells (22,2%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,29.

#### Risk Estimate

	Value
Odds Ratio for GRUPS (kontrol / gliom hasta)	<sup>a</sup>

a. Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2\*2 table without empty cells.



## FORMLAR

### BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(Hasta İçin)

#### I-Araştırmayla İlgili Bilgiler

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı **‘D VİTAMİNİ SERUM DÜZEYLERİ İLE D VİTAMİNİ METABOLİZMASINDAKİ KRİTİK GENLERE AİT VARYASYONLARIN BEYİN KANSERİNDE İNCELENMESİ’**dir.

Bu araştırmada beyin kanserinde, VDR ve VDBP gen polimorfizmleri, serum D vitamini düzeylerinin beyin karsinogenezinde Türk popülasyonu üzerinde bir risk etmeni oluşturup oluşturmadığı araştırılacaktır. Elde edilen sonuçlar beyin kanserinin moleküler mekanizmasının aydınlatılmasına, kanser gelişimine daha elverişli olan kişilerin önceden tespit edilmesine ve bu kişilerin hastalığı önlemede gerekli işlemlere tabi tutulmasının sağlanmasında faydalı olacaktır. Bu araştırmada size herhangi bir tedavi süreci uygulanmayacaktır. Bu araştırma için öngörülen süre 6 ay olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 100 kişi ‘dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak biz araştırmacılara serum ve cerrahi operasyon sırasında tümörlü doku ve tümörlü olmayan dokunun alınmasına izin verip, verdiğiniz serum ve dokularda çalışma yapmamıza yardımcı olmanız ve çalışmanın sonucunda bilgi almanız sizin sorumluluklarınızdır.

Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve rahatsızlık durumu bulunmamaktadır. Ayrıca sizin için beklenen yararlar sizden sonraki bireylerin kolorektal kanser ile ilgili tedavilerine yarar sağlamak olup bilim dünyasına dolaylı yönden katkıda bulunmuş olacaksınız.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır. Ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAP tarafından desteklenmektedir.

#### II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgiler

Bu araştırmada uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlıkla ve riskle karşılaşmanız söz konusu değildir ve yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu çalışmada sizin hiçbir hukuki ve mali sorumluluğunuz bulunmayıp tüm sorumluluk



araştırmacı ve destekleyiciye aittir. Arzunuz üzere mali ve hukuki yükümlülüğünüz olmaksızın çalışmadan ayrılabilirsiniz. Elde edilen DNA bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır. Başka bir çalışmada sizin DNA'nızın kullanılması gerektiğinde sizden izin alınacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0212 414 20 00 / 33326 nolu telefonda Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'e veya 0 554 515 94 05 nolu telefonda Murat Özdemir'e ulaşabilirsiniz.

Sayın Prof. Dr. Ali Metin KAFADAR İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi AD'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Prof.Dr. Ali Metin KAFADAR İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi AD 0532 324 0186 numaralı (telefon ve adres) 'ten arayabileceğimi biliyorum (Doktor ismi, telefon ve adres bilgileri mutlaka belirtilmelidir).

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

## **GÖNÜLLÜ ONAY FORMU**

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

**Gönüllünün;**

**Adı-soyadı:**

**Tarih:**

**Adresi:**

**Telefon no:**

**İmzası:**

**Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının;**

**Adı-soyadı: Prof.Dr. Ali Metin KAFADAR**

**Tarih:**

**Adresi: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi anabilim dalı  
34098 Cerrahpaşa-Fatih/İstanbul**

**Telefon no: 0532 324 0186**

**İmzası:**

**Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,**

**Adı-soyadı:**

**Tarih:**

**Adresi:**

**Telefon no:**

**İmzası:**

**BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)**

## (Sağlıklı Birey İçin)

### I-Araştırmayla İlgili Bilgiler

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı **‘D VİTAMİNİ SERUM DÜZEYLERİ İLE D VİTAMİNİ METABOLİZMASINDAKİ KRİTİK GENLERE AİT VARYASYONLARIN BEYİN KANSERİNDE İNCELENMESİ’** dir.

Bu araştırmada beyin kanserinde, VDR ve VDBP gen polimorfizmleri, serum D vitamin düzeylerinin beyin karsinogenezinde Türk popülasyonu üzerinde bir risk etmeni oluşturup oluşturmadığı araştırılacaktır. Elde edilen sonuçlar beyin kanserinin moleküler mekanizmasının aydınlatılmasına, kanser gelişimine daha elverişli olan kişilerin önceden tespit edilmesine ve bu kişilerin hastalığı önlemede gerekli işlemlere tabi tutulmasının sağlanmasında faydalı olacaktır. Bu araştırmada size herhangi bir tedavi süreci uygulanmayacaktır. Bu araştırma için öngörülen süre 6 ay olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 100 kişi ‘dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak biz araştırmacılara kan örneğinizin alınmasına izin verip, verdiğiniz kan örneklerinde çalışma yapmamıza yardımcı olmanız ve çalışmanın sonucunda bilgi almanız sizin sorumluluklarınızdır.

Bu araştırmada sizin için her hangi bir risk ve rahatsızlık durumu bulunmamaktadır ayrıca sizin için beklenen yararlar sizden sonraki bireylerin kolorektal kanser ile ilgili tedavilerine yarar sağlamak olup bilim dünyasına dolaylı yönden katkıda bulunmuş olacaksınız.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAP tarafından desteklenmektedir.

### II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgiler

Bu araştırmada uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlıkla ve riskle karşılaşmanız söz konusu değildir ve yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu çalışmada sizin hiçbir hukuki ve mali sorumluluğunuz bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir. Arzunuz üzere mali ve hukuki yükümlülüğünüz olmaksızın çalışmadan ayrılabilirsiniz. Elde edilen DNA bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır. Başka bir çalışmada sizin DNA'nızın kullanılması gerektiğinde sizden izin alınacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla

kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0212 414 20 00 / 33326 nolu telefondan Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'e veya 0 554 515 94 05 nolu telefondan Murat Özdemir'e ulaşabilirsiniz.

Sayın Prof. Dr. Ali Metin KAFADAR İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi AD'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Prof.Dr. Ali Metin KAFADAR İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi AD 0532 324 0186 numaralı (telefon ve adres) 'ten arayabileceğimi biliyorum (Doktor ismi, telefon ve adres bilgileri mutlaka belirtilmelidir).

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

## GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

**Gönüllünün;**

**Adı-soyadı:**

**Tarih:**

**Adresi:**

**Telefon no:**

**İmzası:**

**Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının;**

**Adı-soyadı:** Prof.Dr. Ali Metin KAFADAR

**Tarih:**

**Adresi:** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakóltesi Beyin ve Sinir Cerrahisi anabilim dalı 34098  
Cerrahpaşa-Fatih/İstanbul

**Telefon no:** 0532 324 0186

**İmzası:**

**Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,**

**Adı-soyadı:**

**Tarih:**

**Adresi:**

**Telefon no:**

**İmzası:**

**ETİK KURUL KARARI**

T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 8  
Konu: Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN hk.

Tarih : 04.01.2018

Sayın Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN  
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

İlgili : Moleküler Tıp Anabilim Dalının 20/12/2017 gün ve 476395 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Murat ÖZDEMİR' in yürüteceği 2017/1480 dosya numaralı "D Vitamini Serum Düzeyleri ile D Vitamini Metabolizmasındaki Kritik Genlere Ait Varyasyonların Beyin Kanserinde İncelenmesi" başlıklı çalışma kurumumuzun 22/12/2017 tarih ve 21 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

  
Prof. Dr. A. Yağcı ÜRESİN  
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar  
Etik Kurul Başkanı

Ekl: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

## İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"D Vitamini Serum Düzeyleri İle D Vitamini Metabolizmasındaki Kritik Genlere Ait Varyasyonların Beyin Kanserinde İncelenmesi"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Tıp, Tıbbi Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Diğer ise belirtiniz :				
	TEK MERKEZ	ÇOK MERKEZLİ	ULUSAL	ULUSLAR ARASI	
	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

## İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"D Vitamini Serum Düzeyleri İle D Vitamini Metabolizmasındaki Kritik Genlere Ait Varyasyonların Beyin Kanserinde İncelenmesi"
-----------------------	---

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	<input checked="" type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	<input type="checkbox"/>	Açıklama	
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>		
	ŞİORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	HASTA KARTI/GÖNÜLLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
KARAR BULGULARI	Karar No:21	Tarih: 22/12/2017		
	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalında görevli Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'in sorumluluğunda ve Murat ÖZDEMİR'in yöneteceği yakarada bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıda katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU									
ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilgili *	Katılım **	İmza		
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLI
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLI
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Ahmet Gül</i>
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Oğuzhan Çoban</i>
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyostatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Sevdâ Özel Yıldız</i>

\* Araştırma ile ilgili  
\*\* Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamındaki klinik araştırmalar Sağlık Bakanlığından izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.



## İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

### D VİTAMİNİ SERUM DÜZEYLERİ İLE D VİTAMİNİ METABOLİZMASINDAKİ KRİTİK GENLERE AİT VARYASYONLARIN BEYİN KANSERİNDE İNCELENMESİ

#### ORJİNALLİK RAPORU

% <b>10</b>	% <b>7</b>	% <b>5</b>	% <b>3</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>Submitted to Istanbul University</b> Öğrenci Ödevi	% <b>1</b>
<b>2</b>	<b>Submitted to TechKnowledge Turkey</b> Öğrenci Ödevi	% <b>1</b>
<b>3</b>	<b>istanbulsaglik.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>4</b>	<b>www.ejmanager.com</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>5</b>	<b>library.cu.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<b>acikerisim.selcuk.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<b>Liangliang Chen, Junjun Wei, Shuwei Zhang, Zhongguan Lou et al. "Association of VDR gene TaqI polymorphism with the susceptibility to prostate cancer in Asian population</b>	<% <b>1</b>

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Murat	<b>Soyadı</b>	Özdemir
<b>Doğ. Yeri</b>	Trabzon	<b>Doğ. Tar.</b>	22.08.1985
<b>Uyruğu</b>	T.C.	<b>TC Kim No</b>	56920483232
<b>Email</b>	ozdemir.mmm@gmail.com	<b>Tel</b>	5545159405

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>		
<b>Lisans</b>	Cumhuriyet Üniversitesi	2009
<b>Lise</b>	Gülizar Zeki Obdan Lisesi	2003

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Farmakogenetik Laboratuvar Uzmanı	Üsküdar üniversitesi	2016 – Devam ediyor
2.	Ambalaj Uzmanı	Sca Yıldız Kağıt ve Kişisel Bakım Ürünleri	2013 – 2016
3.	Kimyager	Yakın Doğu Üniversitesi	2010 - 2012

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Zayıf	Zayıf	YÖKDİL	63,75

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>ALES Puanı</b>	75,8		
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Mikrosoft Ofis Programlar	Çok iyi

### Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Fadime Canbolat, Aykut Kul, **Murat Özdemir**, Uğur Atik, Ahmet Aydın, S. Tuncel Özden, K. Nevzat Tarhan. Substance Abuse Profiles of Patients Admitted to the

Alcohol and Drug Addiction Research, Treatment, and Education Center in Turkey.  
Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, Turk J Pharm Sci 2017;14(3):294-303  
DOI: 10.4274/tjps.50470

**Özel İlgi Alanları (Hobileri):**

